كراسات علمية

سلسلة غير دورية تعنى بالإنجازات العلمية الحديثة

البيوتكنولوجيا
فى الطب والزراعة

أستاذ دكتور
أحمد مستجير

تصدرها
المكتبة الأكاديمية

رئيس التحرير
أ.د./ أحمد شوقى

مدير التحرير
أ. / أحمد أمين

المكتبة الأكاديمية

البيوتكنولوجيا

فى الطب والزراعة

دكتور

أحمد مستجير

الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٨

البيوتكنولوجيا

فى الطب والزراعة

دكتور

أحمد مستجير

الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٨

حقوق النشر

المكتبة الأكاديمية

١٢١ ش التحرير – الدقى – القاهرة

تليفون: ٣٤٨٥٢٨٢/ ٣٤٩١٨٩٠

فاكس: ٣٤٩١٨٩٠ – ٢٠٢.

هذه السلسلة

تعد استجابة منطقية لما لقيته شقيقتها الكبرى «كراسات مستقبلية» التى بدأ ظهور أعدادها الأولى عام ١٩٩٧، من الترحاب والتشجيع، المقرونين بالدعوة إلى زيادة مساحة العلم فى إصدارات السلسلة إلى أقصى حد ممكن.

لقد دفعتنا هذه الدعوة إلى التفكير فى أن تفرد للموضوعات العلمية سلسلة خاصة، تستحقها، فكانت هذه السلسلة، التى تمثل تطويراً وتوسعاً فى أحد محاور «كراسات مستقبلية»، حيث ذكر فى مقدمتها ما نصه:

«الإلمام بمنجزات الثورة العلمية والتكنولوجية، التى تعد قوة الدفع الرئيسية فى تشكيل العالم، مع استيعاب تفاعلها مع الجديد فى العلوم الاجتماعية والإنسانية، من منطلق الإيمان بوحدة المعرفة».

ومن ملامح هذه السلسلة:

المحافظة – على شكل المقال التفصيلى الطويل (Monagraph) الذى تتميز به الكراسات عادة.

– الحرص على تقديم الإتجاهات والأفكار العلمية الجديدة، بجانب تقديم المعارف الخاصة بمختلف المجالات الحديثة، بشكل يسمح للقارىء «المتعلم غير المتخصص»، الذى يمثل القارىء المستهدف للكراسات، بالقدر الكافى من الإلمام والقدرة على المتابعة.

– وفى تقديمها للإتجاهات والمعارف العلمية الحديثة، لن تتبنى الكراسات الشكل النمطى لتبسيط العلوم، الذى يستهدف النجاح فى إضافة كمية – قلت أو كثرت – لبعض المعارف العلمية – إلى ثقافة المتلقى – إننا لا نتعامل هنا مع العلم كإضافة، ولكن كمكون عضوى أصيل للثقافة المعاصرة. وهو مكون ثرى، يتضمن المناهج والمعلومات والأفكار والإتجاهات.

– وتأكيداً لعدم النمطية، ستتسع السلسلة للتأليف والترجمة والعرض، وتتضمن إجتهادات التبسيط والتنظير والاستشراف، وستنطلق من أهمية تضامن المعرفة والحكمة وإرتباط العلم الحديث بالتكنولوجيا - techno science، مع التركيز على أهمية ارتباطهما معا بالأخلاق.

وبعد، فإننى أتقدم بالشكر إلى كل الزملاء الذين تحمسوا للفكرة، وساهموا فى تقديم المادة العلمية للسلسلة. وباسمهم وباسمى أشكر الصديق العزيز

الأستاذ أحمد أمين، الناشر المثقف الذى احتفى من قبل بسلسلة «كرايات مستقبلية»، وشجعنا على إصدار هذه السلسلة الجديدة. والله الموفق.

هذه الكراسة

يسعدنى أن تكرس انضمام الدكتور/ أحمد مستجير، الغنى عن التعريف بعطائه العلمى والثقافى، إلى أسرة «كراسات علمية» ومع إتساع مساحة هذا العطاء، نتوقف طويلا أمام جهود الدكتور مستجير المتصلة لمتابعة الجديد فى كتب الثقافة العلمية، وإنتقاء الأفضل والأكثر نفعاً لنقله إلى العربية.

إن مكتبة ترجمات الدكتور مستجير تتضمن أكثر من عنوان فى البيئة وفلسفة وتاريخ العلم، لكن التكنولوجيا الحيوية والهندسة الوراثية تشغلان موقعا متميزاً بينها. لكن سلسلة «كراسات علمية» حظيت بأول عمل مؤلف كامل للدكتور مستجير فى هذا المجال العلمى الهام، الذى تبنى تقديمه لأبناء الوطن على المستوى الثقافى، بعد أن نجح على المستوى المهنى أن ينشىء مركزاً متميزاً لبحوث الهندسة الوراثية بكلية الزراعة الأم، بجامعة القاهرة، خلال فترة عمادته المتميزة لها. لقد دعانى صديقى الكبير لزيارة المركز أثناء عمليات الإنشاء، ولا أنسى وقفته المتأملة وقوله المتفائلة: هنا يصنع مستقبل مصر. تحية له وأهلاً به.

أ.د. أحمد شوقى
أستاذ الوراثة - جامعة الزقازيق
يناير ١٩٩٨

الفهـــــرس

(١) مدخـــل ——— ٩

(٢) قواعد اللعبـة ١٣

الخلية ؛ البروتينات ؛ الأحماض النووية : الدنـا ؛ الأحماض النووية : الرنـا ؛ الكودونـات ؛ ترجمـة الشـفرة ؛ التفـاعل المتسلسـل للبوليمـيريز ؛ الكروموزومــات ؛ البكتريـا ؛ الفيروسـات ؛ إنزيمـات التحديد ؛ الهندسـة الوراثيـة ؛ الخرائـط الوراثية ؛ الفنترات ؛ مكتبة الجينوم ؛ الدنا المكمل

(٣) البيوتكنولوجيا فى الطب ——— ٦٤

العــلاج بالجينــات ؛ السوماتوســتاتين ؛ الكرومــوزوم البشــرى الاصطنــاعى ؛ الإنســولين ؛ هرمــون النمــو البشــرى ؛ الإنترفيرون ؛ البلازمينوجيـن ؛ مسـابر التشـخيص الوراثـى ؛ الفاكسينات ؛ الأجسام المضادة النقيـة ؛ البصمـة الوراثيـة ؛ بعض اسـتخدامات التفـاعل المتسلسـل للبوليميريز ؛ مشـروع الجينـوم البشرى .

(٤) البيوتكنولوجيا فى الزراعة

(أ) – الزراعة النباتية ——— ٩٦

زراعة الأنسجة ؛ التوماتين ؛ البيوتكنولوجيا ومقاومة الآفـات ؛ تكنولوجيـا زراعـة الأنسـجة كوسـيلة لرفـع الانتـاج ؛ البيوتكنولوجيـا وتسـميد النبـات ؛ التمثيـل الضوئـى ؛ تكنولوجيـا التعطيـل ؛ نباتات مطعمة بجينات بشرية

ب - الزراعة الحيوانية ———————————— ١١٢
هرمون النمو البقرى ؛ بكتريا الكرش ؛ الحيوانات عبر الجينية ؛ نقل أعضاء الحيوان إلى الإنسان ؛ كشف جينات الأمراض الوراثية فى الحيوان ؛ التلقيح الصناعى ومنابلة الأجنة ؛ تجنيس الحيوانات المنوية ؛ الحساسية لشرب اللبن

بسم الله الرحمن الرحيم

(١)

مدخـــــل

البيوتكنولجيا الحديثه biotechnology هى استخدام الحيوانات والنباتات والفُطريات والبكتريا والفيروسات – كاملةً أو أجزاء منها – لإنتاج مواد نافعه يحتاجها الانسان ، كالطعام والدواء والكساء والكيماويات ، أو فى تحسين كائنات حية موجودة . هى تكنولوجيا عمليات صناعية ترتكز على النظم البيولوجية biological systems تستهدف تطوير عمليات تجارية ومنتجات ، عن طريق دفع الخلايا الحية إلى القيام بمهام خاصة محددة يمكن التنبؤ بها والتحكم فيها . وهى تضم قائمة يتزايد طولها من التكنولوجيات من بينها : زراعة الخلايا والأنسجة cell & tissue culture ، دمج الخلايا cell fusion ، الدنا المُطَعَّم recombinant DNA ونقل الجينات gene transfer ، والأجسام المضادة النقية monoclonal antibodies ، البصمة الوراثية genetic fingerprint ، منابلة الأجنة embryo manipulation ونقلها ، هندسة البروتين ، وتكنولوجيا تعطيل الجينات antisense technology. ترتكز البيوتكنولوجيا على علوم البيولوجيا والميكروبيولوجيا والكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية molecular biology ، وعلم الوراثة genetics والهندسة الكيماوية ، وعلوم الكمبيوتر .

والواقع أن الإنسان قد تمكن بالفعل منذ آلاف السنين – وربما حتى قبل فجر التاريخ – من استخدام البيوتكنولوجيا عن طريق التجربة والخطأ – دون أن يدرك أساسها ، يشهد بذلك استخدامه الخميرة والفُطر والبكتريا فى إنتاج الجعة والنبيذ والخبز والزبادى والجبن ، على الرغم من أن البكتريا لم

تُكتشف إلا فى منتصف القرن الماضى . بل لقد قام الانسان عمليا فى القرون الأخيرة بالانتخاب لإنتاج حيوانات ونباتات أفضل – تشهد بذلك أغنام المرينو ، والقمح المقاوم لمرض الصدأ ، والبكتريا والفُطر التى تعطى مستويات عالية من المضادات الحيوية antibiotics . وعلى خمسينات قرننا العشرين هذا كانت البيوتكنولوجيا الصناعية تستغل الميكروبات فى إنتاج مواد بسيطة كالأسيتون والبوتانول butanol ، كما تستغل الخلايا الحيوانية فى إنتاج البنسلين والفاكسينات ضد الفيروسات .

ومع التقدم العلمى المذهل الذى يشهده العالم فى عصرنا الحالى ، تزايدت وتنوعت تطبيقات البيوتكنولوجيا بصورة تجعل من الصعب حتى حصر مجالاتها . إنها سلاح ابتدعه عقل الإنسان الجمعى – سلاح غدا ضروريا ، بل وجوهريا ، لتوفير الغذاء والدواء والكساء ، لعالم يفيض الآن بسكانه ، وتتزايد احتياجاته ، بينما تتآكل أرضه الصالحة للزراعة ، وتشح مياهه العذبة .

ومن بين ما أنجزته البيوتكنولجيا الحديثة ، أو تعد بإنجازه ، فى مجال الطب : إنتاج مواد تشخيصية diagnostics أدق وأسرع للكثير من أمراض الإنسان ، إنتاج فاكسينات vaccines أفضل باستخدام الهندسة الوراثية genetic engineering ، الإنتاج الوفير من خلال الميكروبات المُهَنْدَسة وراثيا لبعض الأدوية التى أصبح المتوفر منها قاصرا عن مقابلة حاجة السوق (مثل الإنسولين) ، هندسة بروتينات بشريه محوَّرة بعض الشيء ذات فعالية أقوى (مثل الإنترفيرون interferon) ، اختبار الإمكانيات العلاجية للآلاف من النباتات الاستوائية ، فحص الجينوم البشرى human genome والتعرف على مواقع وترتيب الجينات genes ، وإمكانية تحديد مايحمله الفرد منها حتى قبل أن يولَد ، إيقاف عمل بعض الجينات المُمْرِضة بتصميم جزيئات خاصة لتعطيلها ، العلاج بالجينات gene therapy وتحوير المصير البيولوجى

لحاملى بعض الأمراض الوراثية ، نقل الأعضاء بين البشر ، وتحوير بعض الحيوانات الثديية وراثيا بحيث يمكن نقل أعضائها إلى البشر .

أما فى مجال الزراعة فقد فتحت زراعة الأنسجة والهندسة الوراثية ودمج الخلايا cell fusion ونقل الجينات بين الأنواع ، فتحت آفاقاً رحبة للانتخاب والتحسين فى النبات للصفات الإنتاجية ولتحمُّل الجفاف والملوحة ، ومقاومة الأمراض والحشرات والحشائش دون إضرار بالبيئة ، ولرفع القيمة الغذائية والتسويقية للمحاصيل بتحوير مادتها الوراثية ، وتحسين خصائصها التصنيعية ، ولتحويل مخلفات التصنيع الغذائى إلى منتوجات مفيدة ، ولإنتاج بعض المفردات الغذائية بالمعمل من الخلايا النباتية ، مثل عصير الفاكهة والزيوت النباتية والفانيليا - وربما أيضا ألياف القطن - ومن ثم توفير الأراضى لزراعة محاصيل أخرى ، وللإسراع من التحسين الوراثى وتكثيفه فى الحيوانات باستخدام تكنولوجيا تجميد السائل المنوى والتلقيح الإصطناعى ونقل الأجنة embryo transfer ، والكَلْوَنة (الاستنساخ) cloning ، ولإنتاج فاكسينات أفضل ضد أمراض الحيوان الزراعى ، ومواد تشخيصية أفضل وأسرع للكشف عن أمراض الحيوان ، وعن الشياع والحمل ، ولزيادة إنتاجية الماشية من اللبن باستخدام بروتيناتٍ ناتجة عن الدنا المُطَعَّم ، ولتصميم نباتات وحيوانات محورة وراثيا تنتج فى ثمارها أو فى ألبانها أدوية لعلاج الإنسان .

وفى مجال الصناعة هناك التعدين البيولوجى biomining والتنظيف البيولوجى bioremediation وإنتاج البلاستيك من البكتريا ، والوقود البيولوجى ، وإنتاج الأيدروجين بالميكروبات والطحالب البحرية ، وإنتاج الرنين renin (لصناعة الجبن) عن طريق الدنا المطعم فى الميكروبات ، وإنتاج الإنزيمات الصناعية خصوصا منها ما يعمل تحت درجات الحرارة العالية .

يقدم هذا الكتاب للقارىء عرضا عاما لأهم مجالات ومنجزات البيوتكنولوجيا – فمن الطبيعى ألاَّ نستطيع أن نطرق كل مجالاتها أو منجزاتها فى مثل هذا الكتاب الصغير . ولقد ركزتُ بعض الشىء على شرح الأسس العلمية التى وجدتُ أنها لم تُعْرَض بعد بالشكل الواضح فيما نُشِر بالعربية من كتب علمية عامة – حاولت أن أعرض للقارىء الخلفيةَ اللازمة التى تسهل له القراءة فى غير هذا من الكتب ، كما حاولت أن يكون الأسلوب سهلا لاسيما فى المواضيع التى أعرف – من أسئلة طلبتى – أنها عسيرة .

إننى آمل أن يفتح هذا الكتاب نافذة – صغيرة – يستطيع منها القارىء أن يطل على عالم البيوتكنولوجيا – هذا العالم الغريب الواسع الملىء بالإثارة والبهجة والخير والجمال .

ميلاو ـ النمسا – أغسطس ١٩٩٧ أحمد مستجير

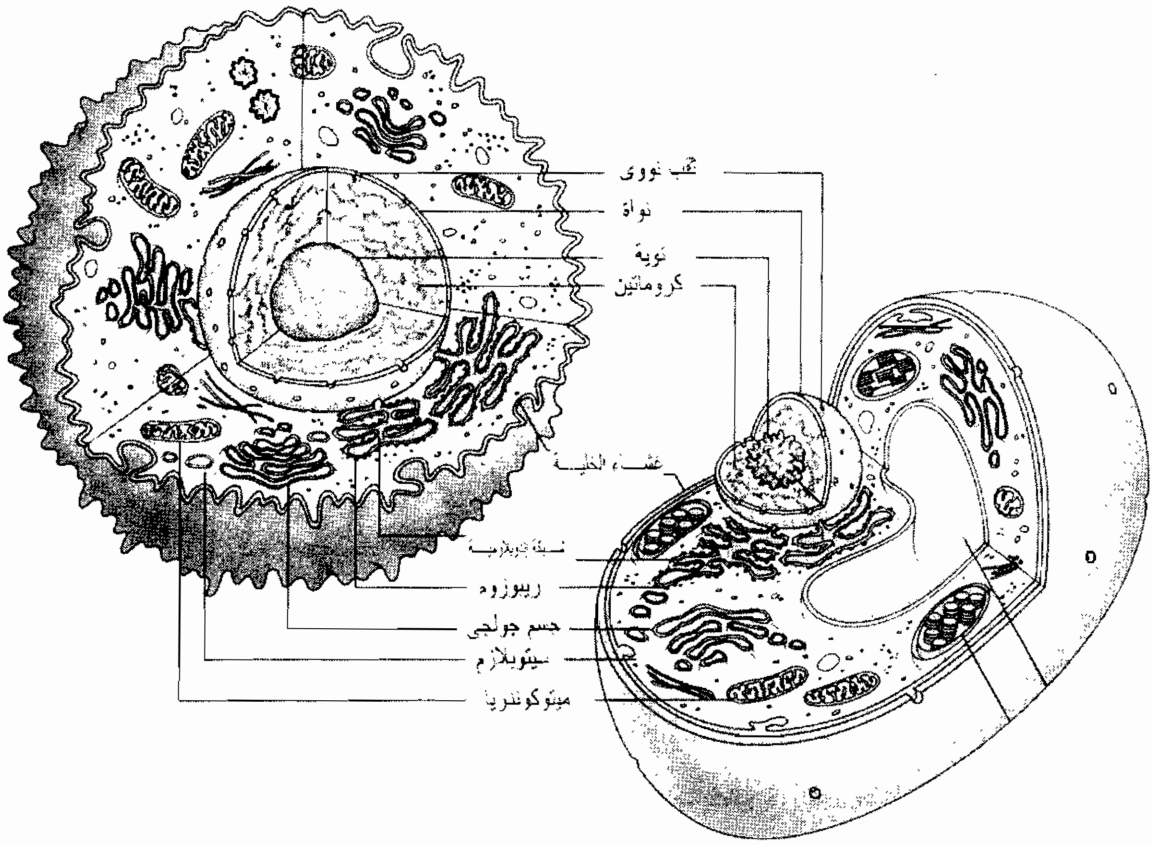
(٢)

قواعد اللعبة

الخلية cell

تعتمد منجزات وإمكانيات البيوتكنولوجيا على عمل الخلية الحية ومكوناتها – نباتية كانت أو حيوانية أو ميكروبية – بل وأساسا على الجهاز الوراثى بالخلية . وبالخلايا تُقَسَّم الكائنات الحية إلى ضربين : حقيقيات النواة eukaryotes وبدائيات النواة prokaryotes . فأما حقيقيات النواة فتحمل خلاياها نواةً واضحة تضم الكروموزومات chomosomes ، وقد يكون الكائن الحى منها مجرد خلية واحدة ، كالخميرة yeast ، وقد يكون متعدد الخلايا مثل النباتات جميعا والحيوانات . وأما بدائيات النواة فلاتحمل خلاياها أنوية واضحةً صريحة لها غشاء يضم الكروموزمات ، وإنما توجد مادتها الوراثية فى السيتوبلازم ، عادة على صورة كروموزوم حلقى ، وهى تشمل البكتريا بأنواعها ، كما يضيف البعض إليها الفيروسات .

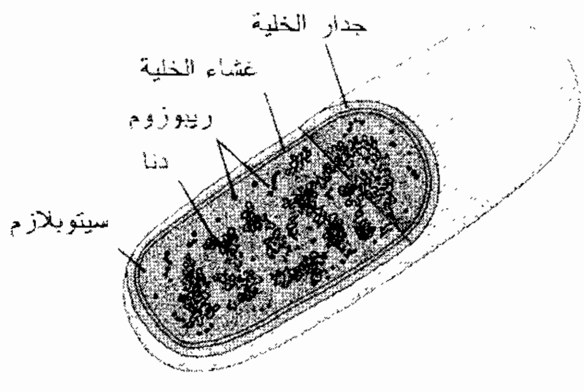
والرسم التالى يوضح تركيب خلية حيوانية (كرة دم بيضاء لتولى) وخلية نباتية ، وخلية بكتيرية ، ومنه نرى :



الشكل رقم (١)

صورة مقطعية لخلية حيوانية نمطية

(إلى اليسار كرة دم بيضاء وإلى اليمين خلية نباتية)



الشكل رقم (٢)

صورة مقطعية لخلية بكتيرية

* الثقوب النووية muclear pores : وهذه فتحات مثمنة الأضلاع توجد بالغشاء النووى

* النواة nucleus ، وهى الكيس داخل خلايا حقيقيات النواة الذى يحمل الكروموزومات ، ويفصلها عن السيتوبلازم cytoplasm غلاف مزودج يسمى غلاف النواة ، ويبلغ حجمها فى خلية الإنسان نحو ١ / ٥٠٠٠ من السنتيمتر .

* النويّة nucleulus : وهذه جسم صغير داخل النواة تتجمع داخله الريبوزمات ribosomes .

* الكروماتين chromatin : وهذه مادة تتألف من دنا DNA مزدوج الجديلة ، وقد طُوِى وكثف بسبب ارتباطه ببروتينات تسمى هستونات histones .

* غشاء الخلية cell membrane : وهذه طبقه رقيقه من البروتوبلازم protoplasm تتألف أساسا من الليبيدات والبروتينات ، توجد على أسطح كل الخلايا . (والبروتوبلازم هو كل ماتحمله الخليه بداخلها) .

* الشبكه الإندوبلازمية endoplasmic reticulum : وهذه جهاز بالسيتوبلازم يعمل فى تمثيل البروتينات وعزلها ونقلها لتجرى إلى حيث الحاجة إليها . وهو مكون من أغشية مزدوجة تسبح الجزيئات البروتينية فيها بينها .

* الريبوزومات ribosomes : هذه جسميات تجمع الأحماض الأمينية amino acids فى صورة بوليبتيدات polypeptides مستخدمه الرنا المرسال messenger RNA كقالب template وتوجد فى السيتوبلازم وتتألف من رنا وبروتين .

* أجسام جولجى golgi bodies : وهذه عضيات سيتيوبلازمية تخدم فى عملية الإخراج ونقل الجزيئات من مكان لآخر داخل الخلية أو إفرازها خارج الخلية ، كما تعمل فى تشكيل بعض البروتينات التركيبية .

* السيتوبلازم : كل مايوجد من مواد داخل الغشاء الخلوى للخلية الكاملة بخلاف النواة . يفصل غشاء النواة مابين السيتوبلازم والنواة .

* الميتوكوندريا (السُبْحيات) mitochondria : وهذه تراكيب معقدة توجد بسيتوبلازم خلايا كل حقيقيات النواة التى تستخدم الأكسجين فى " إحراق "

المنتجات الكيماوية المشتقة من الغذاء ، وذلك لإنتاج الطاقة اللازمة للعمليات الكيماوية والميكانيكية التى تقوم بها الخلايا ، فيما يسمى " التنفس " . تحمل الميتوكوندريا أيضا بعض الدنا فى صورة حلقات من لولب مزدوج [يبلغ طول كل منها فى الانسان ١٦٥٦٩ حَرْفاً وتضم ٣٧ جينا مهمتها توليد الطاقة ، وقد يوجد بالخلية الواحدة بضع مئات منها (وهذه الحلقات تورث عن طريق الأم فقط ، لأن رأس الحيوان المنوى لا يحمل تقريباً أى سيتوبلازم)]. ومن المعتقد أن الميتوكوندريا (والكلوروبلاستات بخلايا النبات) هى الأثر الباقى لخلايا بكتيرية بدائية استوعبتها تكافليا symbiotically خلايا الأسلاف الأوائل لحقيقيات النواة .

* غشاء الخلية cell membrane : هذا تركيب يتألف من دهون وبروتينات يغلف الخلية . وهو يشكل فى الخلايا الحيوانية السطح الخارجى للخلية ، أما فى النبات وبعض الكائنات الأخرى كالبكتريا والخميرة فيحيط بهذا الغشاء من الخارج جدار من سكرات معقد .

* جدار الخلية cell wall : وهذا تركيب منفذ نصف صلب يغلف معظم الخلايا النباتية ويتكون من السليولوز المغطى بالهيميسليولوز ، كما يحتوى على برتينات ودهون . وتصل نسبة السليولوز فى الخلايا المتقدمة فى العمر إلى نحو ٩٤٪ من الوزن الجاف لجدار الخلية .

* فجوة vacuole : وهذه فراغ يحده غشاء يعمل فى الهضم والتخزين والإفراز والإخراج .

* الكلوروبلاستات أو البلاستيدات الخضراء chloroplastids : هذه جسيمات معقده تغلفها أغشية ثلاثة ، توجد بالسيتوبلازم فى بعض خلايا النبات وتقوم بعملية التمثيل الضوئى photosynthesis ، إذ تقتنص الطاقة من أشعة الشمس لتمثيل الجزيئات البيولوجية ، وهى التى تولد غاز الأكسجين الذى تعتمد عليه

معظم الكائنات الحية . والكلوروفيل chlorophyll هو المكوّن الذى يمتص أشعة الشمس ، وهو الصبغة التى تعطى النباتات الخضراء لونها ، ويوجد فى الغلاف الوسطى من الأغشية الثلاثة حول البلاستيدة . تحمل البلاستيدات بعض الدنا فى صورة حلقات من لولب مزدوج .

الجزيئات العملاقة

ثمة جزيئات عملاقة macromolecules أربعة تميز المادة الحية : الأحماض النووية nucleic acids والبروتينات proteins والكربوهيدرات carbohydrates والدهون fats . والكربوهيدرات والدهون تعمل أساسا فى تخزين الطاقة وتشكيل البنية ، وهى توجد فى صورة تكرر رتيبٍ ممل لوحدة فرعية أو وحدات معدودة فى ترتيب يمكن التنبؤ به بالكامل . أما مايهمنا بالنسبة للعمليات الوراثية فهى البروتينات والأحماض النووية .

البروتينات
proteins

البروتينات ماكينات جزيئية تتكون من أحماض أمينية amino acids مرتبطة بروابط كيماوية تسمى الروابط الببتيدية peptide bonds فى صورة سلسلة (أو أكثر) فى تتابع متفرد يميز كل بروتين . وتسمى سلاسل الأحماض الأمينية ببتيدات peptides إذا كانت قصيرة ، أو بوليببتيدات polypeptides إذا كان عدد الأحماض الأمينية فيها عشرين أو أكثر – قد يصل طول السلسلة فى بعض البروتينات إلى ٢٠٠٠ حمض أمينى ، وقد يكون مجرد خمسة أحماض . تؤدى البروتينات معظم أعمال الخلايا والجسم ، فهى تعمل فى تعضيد هيكل الجسم وشكل خلاياه ، وتقوم بحفز مجال واسع من التفاعلات الكيماوية بالجسم ، بجانب مهمتها التنظيمية . من بين أهم

البروتينات المعروفة : الإنزيمات enzymes والهرمونات hormones والأجسام المضادة antibodies ، والمستقبلات receptors ، والكولاجين collagen (الذى لولاه لأصبحت عظامنا هشة) والهيموجلوبين haemoglobin .

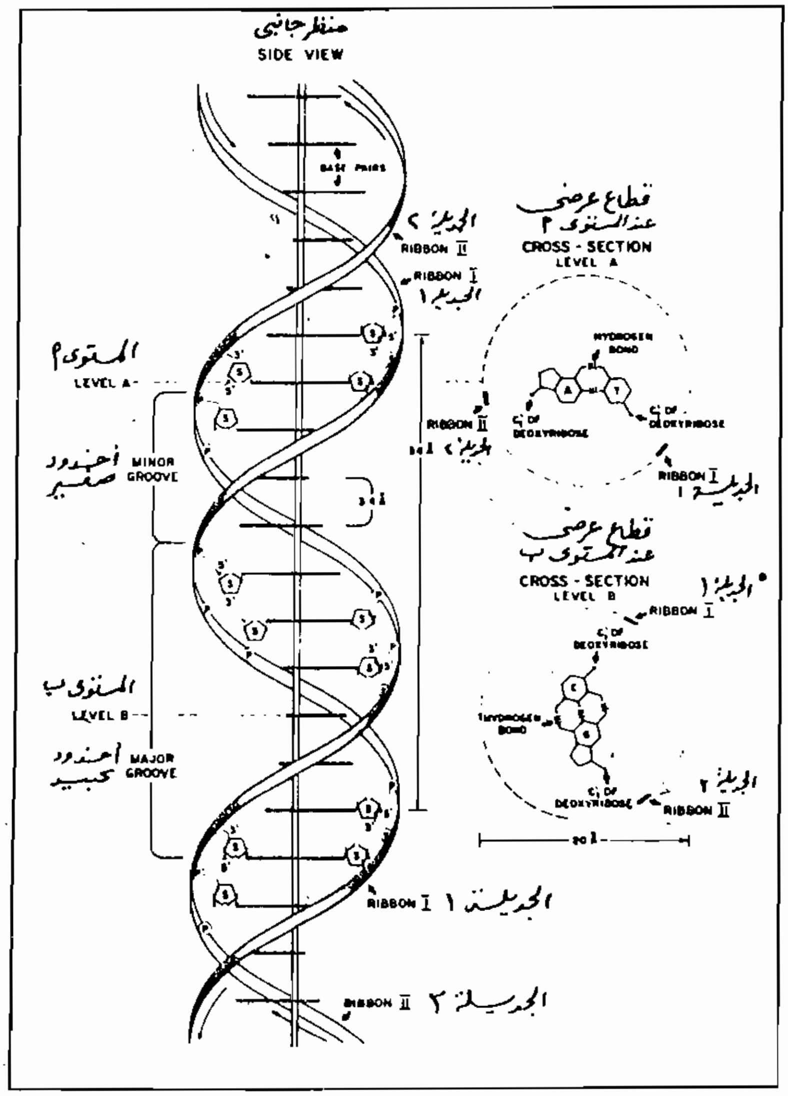
يوجد من الأحماض الأمينية التى تشكل بروتينات الكائنات الحية عشرون نوعا هى :
أرجنين ، أسباراجين ، حمض أسبارتيك ، ألانين ، أيزوليوسين ، برولين ، تربتوفان ، تيروسين ، ثريونين ، جلايسين ، حمض جلوتاميك ، جلوتامين ، سيرين . سيستيين ، فالين ، فينايل ألانين ، لايسين ، ليوسين ، ميثيونين ، هستدين . (الأحماض العشرة المخطوط تحتها يلزم أن تتوفر فى غذاء الإنسان ، لكنه يستطيع تمثيل العشرة الباقية بجسمه) . يشفر لكل من هذه الأحماض العشرين كودون أو أكثر فى الدنا (كما سنرى) ، كما يحكم تتابعَ الأحماض فى أى بروتين تتابعٌ نظيرٌ فى الدنا .

تشترك كل الأحماض الأمينية فى مجموعة ثابتة من الذرات (يد٢ن – ك يد – ك أ أ يد) ولكل منها سلسلة جانبية مختلفة . تحصل الروابط الببتيدية – التى تحفظ سلسلة الأحماض – بين ذرة الكربون (ك) فى مجموعة الكربوكسيل (ك أ أ يد) carboxyl لحامض ، وذرة النتروجين (ن) فى مجموعة الأمين (ن يد ٢) amino group بالحامض التالى – ومن ثم تبدأ سلسلة الأحماض التى تكوِّن البوليببتيد (البروتين) بمجموعة أمين وتنتهى بمجموعة كربوكسيل . بعد أن تتكون سلسلة البروتين ، تنطوى على نفسها فى صورة مميزة يحددها أساسا مايحدث بين السلاسل الجانبية للأحماض من تفاعل . وشكل البروتين المطوى هو الذى يحدد وظيفته .

الأحماض النووية
nucleic acids

(أ) الدنا

المادة الوراثية للكائنات الحية جميعا – من البكتريا حتى الإنسان – مادة واحدة هى الحمض النووى الديوكسى ريبوزى أو الدنا deoxyribonucleic acid , DNA . كل الأحياء على وجه الأرض أقارب فى الدنا . اكتشف هذا الحمض عالم سويسرى اسمه يوهان فريدريخ ميشر J. F. Miescher عام ١٨٦٩ بعد أن عزله من الصديد بضمادات الجروح (وأطلق عليه إسم نوكلين) ، ولقد عثّر عليه أيضا فى خلايا الخميرة والكلى والكبد والخصية وكرات الدم الحمراء وفى رأس الحيوانات المنوية لأسماك السالمون . أما تفاصيل تركيبه فقد كشف عنها واطسون وكريك Watson & Crick عام ١٩٥٣ . وهذا الحمض جزىء عملاق حلزونى spiral يسمى " اللولب المزدوج " double helix ويبدو مثل درج stair ملفوفٍ ملتوٍ ، له جانبان من السكر الديوكسى ريبوزى والفوسفات ، عليهما تقام السلالم . تتألف كل سلمة من زوج من الأحماض النووية أو القواعد bases ، يتصل كل منهما بحلقة السكر بأحد جانبى الدرج ، بينما تربطهما روابط كمياوية ضعيفة من الأيدروجين . تسمى القاعدة (نصف السلمة) ومعها حلقة السكر الديوكسى ريبوزى ومجموعة الفوسفات المرتبطة (أى القاعدة ومعها الجزء من جانب الدرج الذى ترتبط به) باسم النواتيدة أو النوتيدة nucleotide . النوتيدات إذن هى الوحدات القاعدية التى تشكل هيكل اللولب المزدوج . وجديلتا اللولب المزدوج لاتنفصلان تلقائيا تحت الظروف الفسيولوجية الطبيعية ، لكن من الممكن فصلهما إذا عُرِّض الدنا إلى درجات حرارة قرب الغليان (٩٦ درجة مئوية) أو إذ عُرِّض إلى درجة حموضة pH أقل من ٣ أو أكثر من ١٠ .

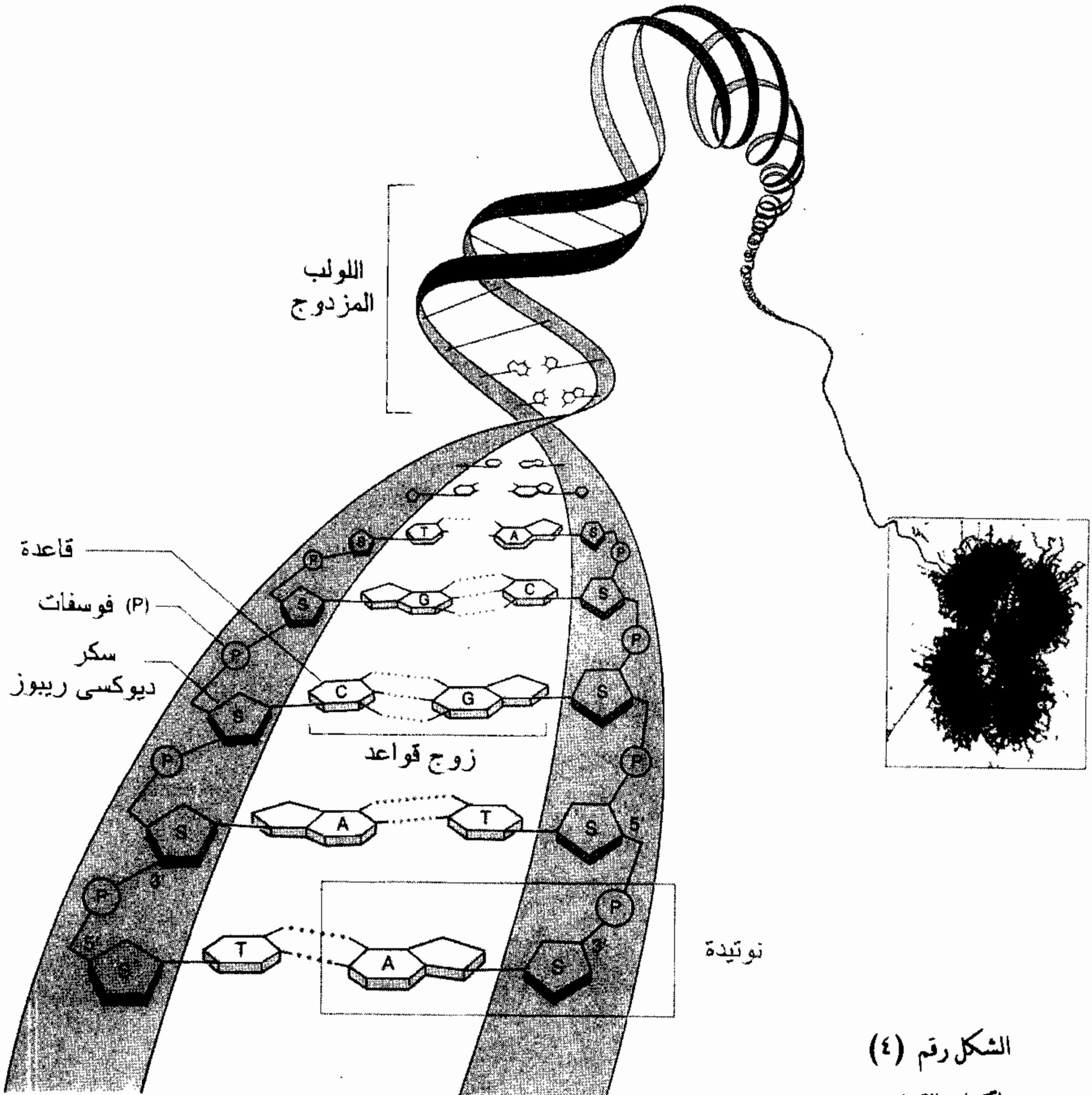


الشكل رقم (٣)

اللولب المزدوج

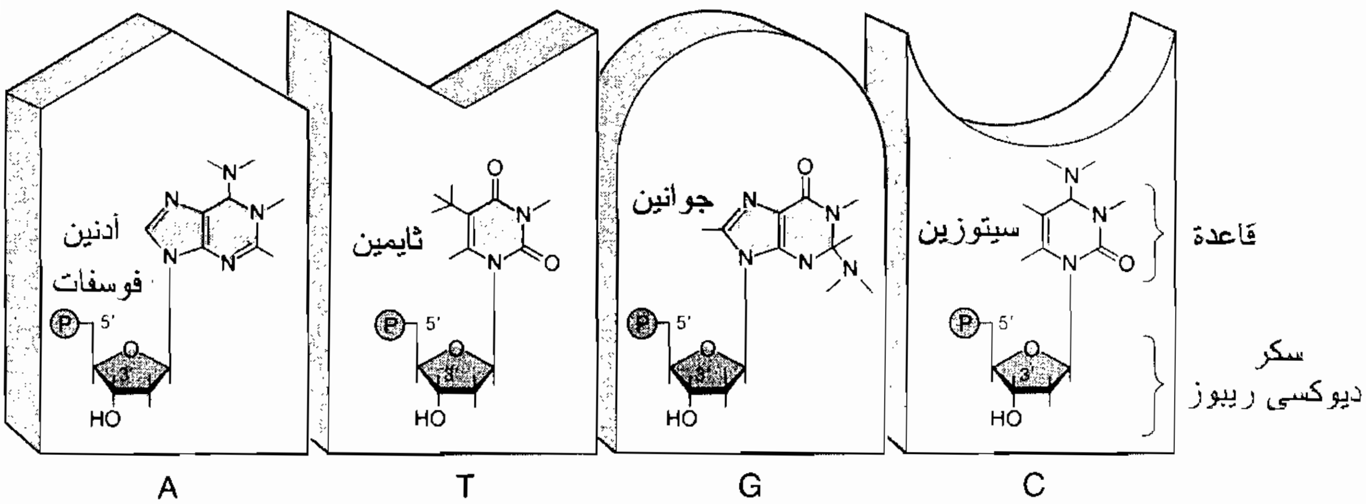
هنـاك مـن القواعـد bases فـى الدنـا أربـع لا أكـثر : الأدنيـن (أ) Adenine (A) ، والثايمين (ث) (T) Thymine ، والجوانين (ج) Guanine (G) ، والستيوزين (س) (C) ytosine . والأدنين والجوانين يتبعان مجموعـة المركبات العضوية الحلقية المعروفة باسم البيورينات purines ، أمـا الثـايمين

والستيوزين فمن مجموعة البيريميدينات pyrimidines . وهناك من أشكال السلالم اثنان : أ = ث ، أو ث = أ (وتربطهما اثنتان من الروابط الهيدروجينية) ، س ≡ ج أو ج ≡ س (وتربطهما ثلاث روابط هيدروجينية) (س ، ج ترتبطان إذن برباط أوثق من رباط أ ، ث) .



الشكل رقم (٤)
اقتران القواعد
فى جديلتى اللوب المزدوج

الأدنين على جديلة لايكمل السلّمة إلا مع قاعدة الثايمين علـى الجديلـة المواجهة من الدنا ، وبـالمثل ث لاتكمـل السـلّمة إلا مـع أ ، كمـا أن الجوانيـن لايكمل السلّمة إلا مع الستيوزين (وبالمثل : س على جديلة لاتتكامل إلا مـع



الشكل رقم (٥)

صورة تخطيطية لقواعد الدنا الأربعة

لاحظ أن هناك ذرة كربون (لم توضح بالرسم) فى كل نقطة تتقاطع فيها رابطتان كيماويتان أو أكثر (الروابط مبينة فى صورة خطوط) . المواقع التى لا تظهر بها ذرة فى نهاية الرابطة تعنى وجود ذرة أيدروجين

كل قاعدة فى الدنا إذن ملحق بها على جانبىْ اللولب (الدرج) السكر الديوكسى ريبوزى مرتبطا بفوسفات ، لتتشكل بذلك نوتيدة . تتصل النوتيدات المتتابعة خَطِّياً فى الركيزة السكرفوسفاتية عن طريق رابطة قوية تربط السكر فى نوتيدة بفوسفات النوتيدة المجاورة . وعلى هذا فإن كل مجموعة فوسفات ترتبط بالسكر فى نوتيدتين ، وتَكُون الرابطة مع ذرة الكربون رقم ٣ فى حلقة سكر ومع ذرة الكربون رقم ٥ فى الحلقة المجاورة على الجديلة . ونتيجة لهاتين الرابطتين بالفوسفور سنجد أن لجديلة الدنا اتجاها : إما من ٥َ إلى ٣َ (تقرأ من خمسة مرقومة إلى ٣ مرقومة) أو من ٣َ إلى ٥َ ، ولجديلتى أىِّ لولب مزدوج اتجاهان مختلفان ، واحدة تجرى من ٥َ إلى ٣َ والأخرى من ٣َ إلى ٥َ . وعلى هذا يُكْتَب التتابع المذكور فى نهاية الفقرة السابقة كما يلى مثلا :

٥َ – أ س أ أ ج ث س – ٣َ الجديلة الأولى
٣َ – ث ج ث ث س أ ج – ٥َ الجديلة المكملة

والعادة أن يكون التتابع مختلفا بين الجديلتين المكملتين إذا قُرِئتا فى نفس الاتجاه (مثلا ٥َ – ٣َ) كما فى هذا المثال ، ولكن هناك تتابعات تُقْرَأ طردا مثلما تقرأ عكساً ، أى تتطابق قراءتهما فى نفس الاتجاه :

٥َ – ج أ أ ث ث س – ٣َ
٣َ – س ث ث أ أ ج – ٥َ

(ب) الرنـــــــــا

هناك بجانب الحمض النووى الديوكسى ريبوزى (الدنا) حامض نووى أخر مهم هو الحمض النووى الريبوزى (رنا) ribonucleic acid (RNA) . يشكل هذا الحمض الغالبية العظمى من الأحماض النووية بخلايا كل الكائنات الحية ، بل ويشكل المادة الوراثية ذاتها لبعض أنواع الفيروسات (الفيروسات الارتجاعية retroviruses) . وترجع أهمية الرنا إلى دوره فى

عملية تمثيل البروتين protein synthesis . توجد سلاسل الرنا ، التى تشبه سلاسل الدنا إن تكن أقصر كثيرا ، فى صورة مفردة دائما (لامزدوجة) ، أى أنها لاتشكل لولبا مزدوجا كالدنا . وهى تشبه شرائط الدنا المفردة إلا فى أمرين : فالسكر فيها ريبوز ribose لا ديوكسى ريبوز ، ثم إنها لاتحمل قاعدة الثايمين وإنما ـ بديلاً عنها ـ قاعدة اليوراسيل (ى) (Uracil (U التى يمكن أن تقترن أيضا (كالثايمين) بالأدنين لا بغيره (فالقواعد الأربع فى شريط الرنا المفرد إذن هى أ ، ى ، ج ، س) . توجد من الرنا صور عديدة أهمها الرنا النووى ، والرنا المِرْسال ، والرنا الريبوزومى ، والرنا الناقل .

ذكرنا أن وظيفة جزئ البروتين تعتمد على الصورة التى يتخذها الجزئ عندما يُطْوى ويتخذ شكله النهائى ثلاثى الأبعاد ، وأن هذه الصورة يحددها إلى حد بعيد تتابع الأحماض الأمينية فى الجزئ ، أما وظيفة الدنا فيحددها فقط التتابع الخطى للقواعد فيه . يشفر للبروتينات جزء من دنا الكائن الحى ، ولكل بروتين جين gene (وهذا اسم صاغه لأول مره فيلهلم يوهانسين W . Johannsen عام ١٩٠٩) . والجين تتابع خطى من النوتيدات فى الدنا . وتوجد فى حقيقيات النواة بين المقاطع المشفِّرة للبروتينات أطوال من التتابعات تسمى سقط الدنا junk DNA لا تُعْرَفُ لها وظيفة (تزداد نسبتها فى الكائنات الأعلى وقد تصل إلى ٩٥٪ من الدنا الكلى) . والمقاطع التى تتاخم الجين فى مطلعه مهمتها التحكم فى فتح الجينات للعمل ، وهى تسمى المنشطات promoters ، ولبعض هذه المنشطات أهميتها العظمى فى التخصص الخلوى cell specification ، فهى تُغْلِق جين الإنسولين مثلا فى خلية الدم ، ولكنها تفتحه فى خلايا البنكرياس .

الشفـرة الوراثيـــة

الدنـا إذن يمثـل رسـائل مشـفَّرة تسـمى جينـات تعمـل فـى صناعـة البروتينات وفى التنظيم والهَيْكَلَة . والجين الواحد يشفر لبروتين واحد (وقـد تتكرر نسخ من نفس الجين عددا من المرات فى الجينوم الواحد قد يصل إلـى المئات) . يتراوح طول الجين عادة مـابين بضـع مئـات (جيـن الذكـورة فـى الإنسان مثلا مؤلف من ٢٤٠ زوجا مـن القواعـد) وبضعـة آلاف مـن أزواج القواعد – وإن كان طول بعض الجينات قد يصل إلى نحو مليونى زق (زوج قواعد) ، مثل الجين المشفر لبروتين الدينورفيـن dynorphin المسـئول عـن مرض دوتشين Duchenne فى الإنسان . يقاس طول الجيـن كمـا رأينـا بعـدد أزواج القواعد فيه .

ينقسم تتـابع القواعـد الـذى يكـوّن الجيـن المشـفر لأى بروتيـن إلـى كودونـات codons ، والكودون هو ثلاث قواعـد bases متتابعـة علـى طـول الجيـن (مثـلا أ أ ج أو س ج ث) . ولمـا كـان عـدد الحـروف (القواعـد) التى تشكل الدنا أربعة (أ ، ث ، ج ، س) فسيكون هناك ٦٤ ثلاثية أوكودونا ممكنا (٤مرفوعة إلى الأس ٣) . يشفر كل كودون لحمـض أمينـى واحـد . لكن عدد الأحماض الأمينية عشرون ، لذا فقد يشفّر للحمض الواحد أكثر مـن كودون . كما أن بعض الكودونـات يتخصـص ليكـون إشـارةً بانتهـاء الجيـن . فأى من الكودونات الثلاثه ث أ أ ، ث أ ج ، ث ج أ يعنـى نهايـة الجيـن ، أى يعمـل كإشـارة توقـف stop ، ولايشـفر لأى حمـض أمينـى . والجـدول التـالى يوضـح الشفرات الأربع والستين

الجدول رقم (١)

الأولى \ الثانية	ى	س	أ	ج	الثالثة
ى	فنا	سير	تير	سيس	ى
	فبا	سير	تير	سيس	س
	ليو	سير	قف	قف	ا
	ليو	سير	قف	ترب	ج
س	ليو	برو	هس	أرج	ى
	ليو	برو	هس	أرج	س
	ليو	برو	جلن	أرج	ا
	ليو	برو	جلن	أرج	ج
أ	أيزو	ثر	أسن	سير	ى
	أيزو	ثر	أسن	سير	س
	أيزو	ثر	لاى	أرج	أ
	ميث	ثر	لاى	أرج	ج
ج	فا	ألا	أسب	حلا	ى
	فا	ألا	أسب	حلا	س
	فا	ألا	جلو	جلا	ا
	فا	ألا	حلو	حلا	ج

(الرموز موجودة بالجدول التالي)

ويمكن وضع الجدول فى صورةٍ تبين الكودونات المشفِّرة لكل من الأحماض الأمينية العشرين :

الحمض الأمينى	**الكودونات المشفِّرة**
أرجنين (أرج)	أ ج أ - أ ج ج - س ج أ - س ج ج - س ج ث
أسبارجين (أسب)	أ أ ث - أ أ س
حمض أسبارتيك (اسن)	ج أ ث - ج أ س
ألانين (ألا)	ج س أ - ج س ج - ج س ث - ج س س
أيزوليوسين (أيزو)	أ ث أ - أ ث ث - أ ث س
برولين (برو)	س س أ - س س ج - س س ث - س س س
تريبتوفان (ترب)	ث ج ج
تيروسين (تير)	ث أ ث - ث أ س
ثريونين (ثر)	أ س أ - أ س ج - أ س ث - أ س س
جلايسين (جلا)	ج ج أ - ج ج ج - ج ج ث - ج ج س
حمض جلوتاميك (جلو)	ج أ أ - ج أ ج
جلوتامين (جلن)	س أ أ - س أ ج
سيرين (سير)	أج أ - أج س- ت س أ-ث س ج - ث س ث - ث س س
سيستيين (سيس)	ث ج ث - ث ج س
فالين (فا)	ج ث أ - ج ث ج - ج ث ث - ج ث س
فينايل ألانين (فينا)	ث ث ث - ث ث س
لايسين (لاى)	أ أ أ - أ أ ج
ليوسين (ليو)	ث ث أ - ث ث ج - س ث أ - س ث ج - س ث ث - س ث س
ميثايونين (ميثا)	أ ث ج (ويعمل أيضا كإشارة بدء)
هستدين (هس)	س أ ث - س أ س

يفيد تعدد الكودونات المشفرة لحمض أمينى فى التخفيف من أثر الطفرة النُقْطيه point mutations على الكائن الحى (والطفرة النقطية تعنى أن تتحول قاعدة فى التتابع فجأة إلى أخرى) . فالطفرات التى تغير الحرف الثالث مثلا من أى من الكودونات المشفرة لحمض الألانين أو البرولين أو الثريونين أو الجلايسين أو الفالين لن يكون لها أى أثر – ومثلها أيضا الكودونات الأربعة الأخيرة (فى الجدول السابق) المشفرة للسيرين . وهناك طفرات نقطية قد تحيل بعض الكودونات إلى اشارة توقف فتفسد عمل الجين الذى يحملها : مثل طفور الحرف الثالث إلى ج فى كودونى التيروسين ، أو طفور الحرف الثانى إلى أ فى الكودونات ث س ج (سيرين) ، ث ج ج (ليوسين) ، أو طفور الحرف الأول إلى ث فى الكودونات س أ ج (جلوتامين) ، ج أ ج (جلوتاميك) ، أ أ ج (لايسين) ، فكل هذه الطفرات تحيل الكودون الأصلى إلى اشارة التوقف ث أ ج .

والشفرة الوراثية خطية ولاتتراكب ، نعنى أن الحرف (القاعدة base) لايُقْرَأ إلا مرةً واحدة وبترتيبه ، فالتتابع سباعى الحروف : أ س أ أ ج ث س قد يقرأ بإحدى قراءات ثلاثة فقط :

	أ س أ	أ ج ث	س
أو :	أ	س أ أ	ج ث س
أو :	أ س	أ أ ج	ث س .

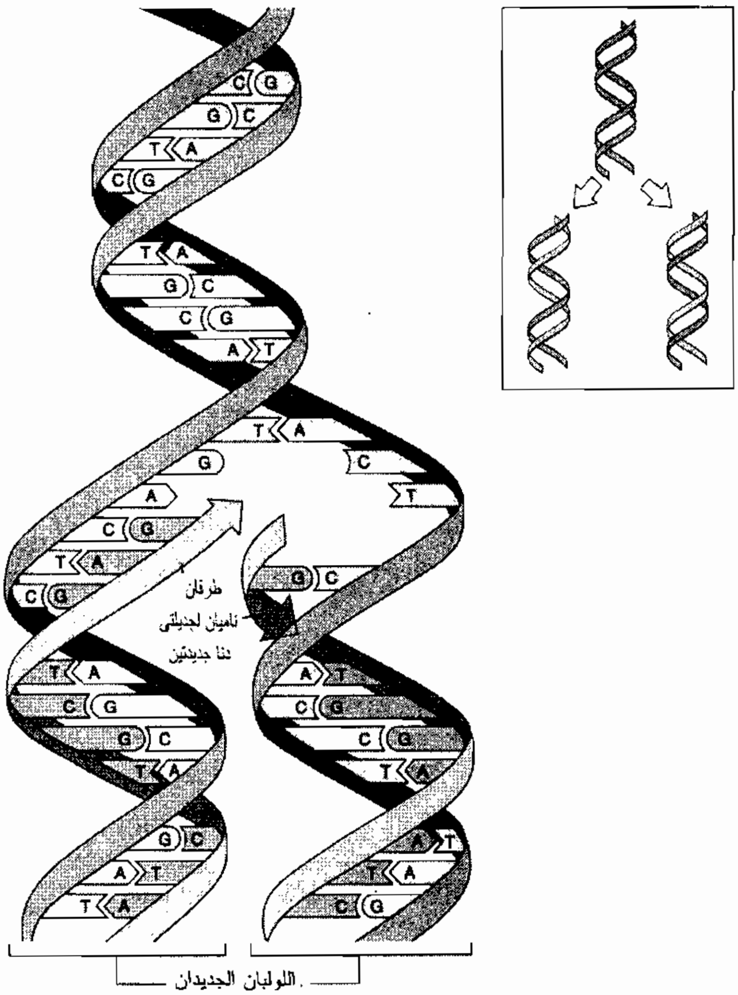
ترجمة الشفرة
translating the code

يعكس ترتيبُ الكودونات فى الجين ترتيب الأحماض الأمينية فى البروتين الذى يشفر له هذا الجين ، وتتم عملية ترجمة الشفرة ، فى الجين على اللولب المزدوج للدنا ، إلى الأحماض الأمينية التى تشكل البروتين بأن

نحصل أولاً على نسخه من هذا الجين بالتحديد لتنفيذ مابه من تعليمات ، إذ تصل رسالة من داخل الخلية أو خارجها تقول إن الوقت قد حان لإنتاج بروتين معين . ترد الرسالة إلى تتابع المنشط promoter الموجود متاخما لمطلع الجين المعنىّ . وسنجد أن جديلة واحدة من جديلتى لولب الدنا المزدوج فى أى مقطع لجين هى الجديلة العَمّالة coding or informative بينما تكون الأخرى بطّالَة noncoding or antisense – نعنى أن تتابع سلسلة الأحماض الأمينية فى البروتين الذى يشفر له الجين يعكس تتابع الكودونات فى الجديلة العمالة لا البطالة (ولنذكر مثلا أن الكودون ٥َ– ث ج ج – ٣َ على جديلة وهو المشفر للتربتوفان ، يقابله على الجديلة المكملة ٣َ– أ س س – ٥َ ، ويُقْرَأ فى الاتجاه ٥َ–٣َس س أ المشفر للبرولين) . هنا تصل إنزيمات بَلْمَرة الرنا RNA polymerases لتبدأ عملية النسخ transcription ، إذ يقوم جزىء من الإنزيم عند تتابع المنشط بفَسْخ جديلتى الدنا ، ويرتبط بالجديلة البطالة للجين ليتخذها قالبا template يبنى عليه ، ثم يبدأ فى إضافة النوتيدات المكملة لتتابع الجديلة هذه (فى الاتجاه ٥ –٣) ، مع ملاحظة أن ى – اليوراسيل – هى القاعدة فى الرنا ، المكملة للقاعدة أ فى الدنا . يتكون بذلك خيط من الرنا يسمى الرنا النووى (رنا – نو)(n RNA) nuclear RNA (n RNA) يتنامى إلى أن يصل إلى كودون التوقف بنهاية الجين – فيتوقف النسخ ، ويستعيد الدنا صورته الأصلية ، ويحرر خيط الرنا النووى ، الذى سيطابق تماما التتابع على جديلة الدنا الأخرى العمالة فى اتجاهه وقواعده ، بعد استبدال القواعد ى بالقواعد ث (واستبدال سكر الريبوز بسكر الديوكسى ريبوز) .

سيكون أول كودون فى الرنا النووى هو كودون حمض الميثيونين أ ى ج (الذى يعمل كإشارة بدء) عند الطرف ٥َ ، أما الكودون الأخير فسيكون واحداً من كودونات التوقف الثلاثة : ى أ ج أو ى أ أ ، ى ج أ (لاحظ أننا استبدلنا القاعدة ى بالقاعدة ث) .

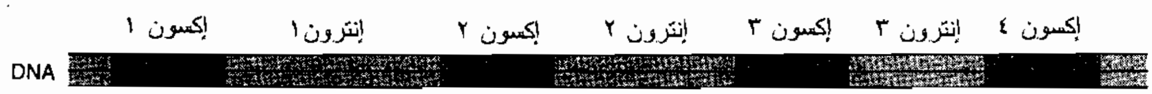
[ربما كان من الملائم هنـا أن نذكـر أن عمليـة كهـذه تمامـاً تحـدث عند تضاعف الرنا أثناء انقسام الخلية ، إذ تُفْسَخُ جديلتا الدنا ، ربما فى مواقـع مختلفة فى نفس الوقت إذا كانت الجديلة طويلة (فى حقيقيات النواة) ، لتقـوم إنزيمات بلمرة الدنا DNA polymerases باضافة القواعد المكملة على كل من الجديلتين المنفصلتيـن (فىالاتجـاه ٥َإلـى ٣َ) لينشـأ بذلـك لولبـان مزدوجـان متطابقان ، ومطابقان للّولب الأصلى ، يحمـل كـل منهمـا واحـدة مـن جديلتـى اللولب القديم ونسخة جديده مكملة .]



الشكل رقم (٦)

الطريقة التى تخيلها واطسون وكريك لتضاعف الدنا ، على أساس الطبيعة المكملة لتتابع القواعد فى السلسلتين

حصلنا الآن على نسخة رنا من دنا التتابع (الجين) المطلوب تنفيذ مابه من تعليمات لإنتاج بروتين بعينه ، لكن الجينات فى حقيقيات النواة عادة ماتحمل بداخلها مقاطع من سقط الدنا ، نعنى أن امتداد القواعد فى جديلة الدنا ، وفى جديلة الرنا – نو الناتجة عنها بالنسخ ، يحمل مناطق مشفِّرة لتتابع الأحماض الأمينية فى البروتين (تسمى إكسونات exons) تتخللها مناطق لغو لا تشفّر لشىء نعرفه (تسمى إنترونات introns) – ومن ثَم تُسمَّى هذه الجينات بالجيناتَ المفروقة split genes :



الشكل رقم (٧)

صورة تخطيطية لجين مفروق

يلزم إذن أن يُشَذَّب خيط الرنا النووى عند تحرره داخل النواة " لتنظيفه " من الإنترونات كى لايبقى للتنفيذ إلا الإكسونات المشفِّرة .

تتم عملية التشذيب splicing هذه داخل النواة ، فتُزال الإنترونات وتُلحم الإكسونات سويا فى شريط أقصر لايحمل إلا الكودونات اللازمة لإنتاج البروتين ، بترتيبها ، ليخرج خيط الرنا وقد شُذِّب – ويسمى الآن الرنا المرسال (رنا–م) messenger RNA (mRNA) – يخرج من غشاء نواة الخلية إلى السيتوبلازم بعد أن يضاف إليه فى الطرف ٣َ ذيل من النوتيدات كلها أدنين ليست له مهمة معروفة ، وقلنسوة فى الطرف ٥َ يبدو أن مهمتها هى إرشاد الريبوزومات إلى كوذون أ ى ج الصحيح لبدء الترجمة .

يحدث فى بعض الأحيان أثناء تشذيب الرنا النووى أن يُحذف مع الإنترونات جزءٌ من إكسون ، أو إكسون كامل أو أكثر ، لينتج عن الجين نفسه بروتين آخر أو أكثر ، حسب حاجة الكائن الحى .

وفى السيتوبلازم تبدأ عملية الترجمة translation لتنفيذ الشفرة التى يتضمنها الرنا المرسال ، إلى أحماض أمينية مرتبة بنفس ترتيب الكودونات على المرسال . تقوم بهذه العملية الريبوزومات ribosomes المؤلفة من أكثر من خمسين بروتينا وثلاثة أو أربعة أنواع من الرنا الريبوزومى (رنا-ر) ribosomal RNA (r RNA) .

ولكى تتضح كيف تتم عملية ترجمة الشفرة إلى بروتينات دعنا نفترض للتبسيط أن البروتين (الببتيد) المطلوبَ مؤلفٌ من سلسلة من ثلاث أحماض أمينية فقط ، وأن ترتيب القواعد على الرنا المرسال الذى خرج من النواة هو

٥َ - أ ى ج س ى أ ج س س ى ج أ - ٣َ

هذه الكودونات تشفر للأحماض الأمينية الثلاثة (بنفس الترتيب) الميثايونين (الذى يلزم أن يبدأ به كل بروتين - وإن كان عادةً مايُبتر قبل أن ينتهى بناء البروتين) فالليوسين فالألانين ، والكودون الأخير (ى ج أ) يعنى :" توقف! فقد انتهى تجميع أحماض الببتيد "

يتخذ الريبوزم شكلا يشبه عجلة التليفريك أو ثمرة فول سودانى ذات حبتين ، أى أن به اختناقاً . يوفِّق الريبوزوم نفسه بحيث تقع سلسلة الرنا المرسال فى الاختناق عند أول كودون بها ، ثم يتحرك على طول السلسلة حتى يقابل إشارة " توقَّفْ " ، كمثل عجلة التليفريك تجرى على الحبل الحديدى إلى حيث تتوقف . يصل فى البداية جزىء من الرنا الناقل (رنا - ن) transfer RNA(tRNA) يحمل فى قمته الكودون ى أ س المضاد anticodon للكودون الأول فى المرسال (أ ى ج) (حاملاً فى ذيله حمض المثايونين) .

يلتحم الكودون المضاد بهذا الكودون الأول ، ثم يتحرك الريبوزوم على شريط الرنا المرسال إلى الكودون الثانى س ى أ ، فيصل جزىء رنا ــ ن آخر يحمل فى قمته الكودون ج أ ى المضاد لكودون المرسال هذا الثانى ، وفى ذيله حمض ليوسين ، الذى يلقف الميثايونين من ذيل جزىء الرنا ــ ن الأول ، ليصبح فى ذيله الحمضان مرتبطين (ويتحرر جزىء رنا ــ ن الأول وقد فقد الحمض من ذيله) . هنا يصل جزىء رنا ــ ن ثالث (بعد أن يتحرك الريبوزوم) فى قمته الكودون س ج ج المضاد للكودون ج س س على المرسال (ويشتبك به) وفى ذيله حمض ألانين يلقف الحمضين من ذيل جزىء الرنا ــ ن الثانى ، ويحرره ، بينما يربط الحمضين بالألانين ، فيصبح فى ذيله ثلاثة الأحماض المكونة للببتيد بنفس ترتيبها . ثم يتحرك الريبوزوم إلى الكودون الرابع على المرسال فيتوقف ، وتكون الرسالة وقد تُرجِمت ، ويكون البروتين وقد تم تجميع أحماضه ، لينطوى ويتخذ الصورة المميزة له ، أو تتم عليه قبل ذلك عمليات تحوير مابعد الترجمة post translational modifications بينما يتحرر الريبوزوم .

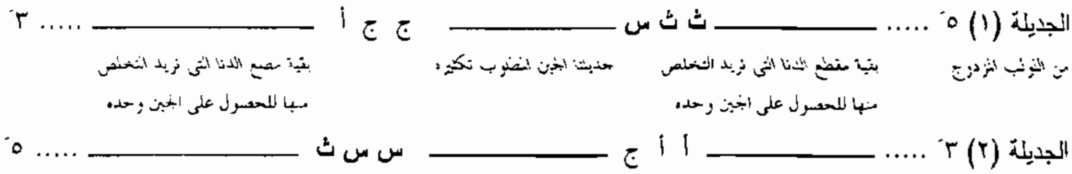
وواقع الأمر أننا سنجد طابوراً من الريبوزومات يعمل فى نفس الوقت على نفس شريط الرنا المرسال ، وكلها تتحرك فى نفس الاتجاه ، وكل منها قد بدأ رحلته من كودون البدء بالمرسال ، بعد أن يكون الريبوزوم السابق له قد تحرك وتركه .

التفاعل المتسلسل للبوليميريز
polymerase chain reaction

كانت تقنية التفاعل المتسلسل لإنزيم بوليميريز الدنا DNA polymerase (وهذا هو الإنزيم الذى يحفز عملية نسخ الدنا ، بأن يقوم بتجميع النوتيدات على قالب template الدنا) من بين أروع التقنيات التى استغلت ظاهرة التكامل بين القواعد على جديلتى الدنا . تُمَكِّننا هذه التقنية من

انتاج الملايين ، بل البلايين ، من نسخ جين أو تتابع فى الدنا يهمنا ، من عينات غاية فى الضآلة من جينوم أى كائن حى دون اللجوء إلى الكَلْونَة cloning . يتطلب الأمر أن نعرف تتابعين قصيرين (يتراوح طولهما مابين عشر ، وثلاثين نوتيدة) يحدان الجين أو التتابع المطلوب تكثيره من الجانبين ، واحداً على جديلة والآخر على الجديلة المكملة . يُطلق على أى من هذين التتابعين اسم الطليعة primer . تَستغل التقنية الجدائلَ المفردةَ – التى تنتج عند تسخين الدنا مزدوج الجديلة ــ كقوالب لتمثيل جدائل جديدة تحدها الطليعتان ، وذلك فى وجود إنزيم بوليميريز الدنا . يستخدم عادة إنزيم بوليميريز تاك taq المأخوذ من بكتريا ثرموس أكواتيكص *Thermus aquaticus* المائية المحبة للحرارة ، فدرجة الحرارة المثلى التى يعمل عندها هى ٧٢° م . أما الطليعتان فيجرى تحضير أعداد وفيرة منها بجهاز مُخَلِّق الدنا DNA synthesizer . نعنى أن التفاعل سيبدأ فى محلول به الدنا الذى يحمل الجين المراد تكثيره وبه وفرة من الطليعتين ومن القواعد الأربعة أ ، ث ، س ، ج ، ثم البوليميريز . وسنوضح خطوات الطريقة بمثال .

لنفرض أن الجين الذى نود تكثيره يحده على جانبيه الطليعتان الموضحتان بالرسم (للتبسيط سنعتبر أن الطليعة مكون من ٣ قواعد فقط) .



الطليعة (١) على الجديلة (١) من اللولب المزدوج هى ٥َ ـ ث ث س ـ ٣َ (وقد كُتبت على الرسم ببنط أسود) والطليعة (٢) على الجديلة (٢) هو ٣َ ـ س س ث ـ ٥َ .

يُسخّن المحلول إلى درجة ٩٤° مئوية ، فتنفصل جديلتا اللولب المزدوج . يبرد المحلول بعد خمس دقائق إلى ٣٠ ° ـ ٧٢ °م فتلتحم الطليعتان كل بالتتابع المكمل ، وتشرع كلٌ بدءا من تتابعها فى بناء جديلة مكملة للقديمة التى التصقت بها :

الجديلة (١) القديمة ٥َ .... ـــــــــ ث ث س ـــــــ ج ج أ ـــــــ ....٣َ
الجديلة (١ ـ أ) ٣َ ... ـــــــ أ أ ج ـــــــ س س ث ٥َ لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (١)

الجديلة (٢) القديمة ٣َ .... ـــــــ أ أ ج ـــــــ س س ث ـــــــ .... ٥َ لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (٢)
الجديلة (٢ ـ أ) الجديدة ٥َ ث ث س ـــــــ ج ج أ ـــــــ ..... ٣َ

سنلاحظ الآن أن الجديلة الجديدة (١ ـ أ) تبدأ بالطليعة ٣َ س س ث ـ ٥َ وتمتد مكملة حتى نهاية المقطع إلى اليمين ، هى لاتحمل كل ما كان من قواعد إلى اليسار . وبنفس الشكل فإن الجديلة الجديدة (٢ ـ أ) تبدأ بالطليعة ٥َ ـ ث ث س ـ ٣َ (ولاشىء إلى يمينها) وتمتد حتى نهاية المقطع المكمل إلى اليسار .

يسخن المحلول مرة ثانية إلى ٩٤° م فينفصل الآن اللولبان المزدوجان كلّ إلى جديلتيه . لكنا سنهتم **فقط** بالجديلة (١ ـ أ) والجديلة (٢ ـ أ) . يبرد المحلول فتلتحم الطليعتان كلٌ بالتتابع المكمل :-

الجديلة (١ـ أ) ٣َ .... ـــــــ أ أ ج ـــــــ س س ث ٥َ لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (١ ـ أ)
الجديلة (١ـ ب) ٥َ ث ث س ـــــــ ج ج أ ٣َ

الجديلة (٢ ـ أ) ٥َ ث ث س ـــــــ ج ج أ ٣َ
الجديلة (٢ـ ب) ٣َ أ أ ج ـــــــ س س ث ٥َ لولب مزدوج ناشىء عن الجديلة (٢ ـ ب)

سنلاحظ الآن أن الجديلة (١ ـ ب) لاتحمل من الجديلة الأصلية (١) إلا منطقة الجين ، ومعها الطليعة (١) والقواعد المكملة للطليعة (٢) ، وأن الجديلة (٢ ـ ب) لا تحمل أيضاً من الجديلة (٢) الأصلية إلا منطقة الجين والطليعة (٢) والقواعد المكملة للطليعة (١) . بتكرار التسخين والتبريد (الذى يجرى أوتوماتيكياً) يتضاعف تكرار (١ ـــ ب) و (٢ ـــ ب) أسّياً exponentially . عشرين دورة كهذه تنتج أكثر من مليون نسخة من الجين فى المحلول [اللولب المزدوج المكون من الجديلتين (١ ـ ب) و (٢ ـ ب) هو الجين] .

ربما لاحظنا أيضاً أن هذه التقنية تبحث بنفسها عن الجين أو التتابع المطلوب ، ثم تُكَاثِرُه ، ولايحتاج الأمر منا أن نفصله عن بقية الجينوم ، بمعنى أننا نستطيع أن نستخدم الجينوم الكامل للكائن الحى ، ثم نترك للتقنية أمر اقتناص الجين ونَسْخِه ملايين المرات إن أدرنا ــ دون تدخل منا . يكفى أن نعرف ترتيب القواعد فى الطليعتين اللتين يحدان الجينَ هدفَنَا .

بعد أن ينتهى التفاعل المتسلسل سيتبقى فى المزيج بجانب الجينات البقية من القواعد bases الأربعة ونُسَخ من الطليعتين والبوليميريز وأطوال أخرى من الدنا غير مطلوبة . ويحتاج الأمر إذن إلى تنقية . يتم ذلك عن طريق التفريد الكهربائى بالجيل electrophoresis الذى يفصل الجين عن كل الشوائب ، إذ يتخذ موقعاً معينا فى صورة شريط على الجيل ، يمكن أن يُقْطَع ، وقد يكرر التفريد مرة أخرى لضمان النقاء .

الكروموزومات
chromosomes

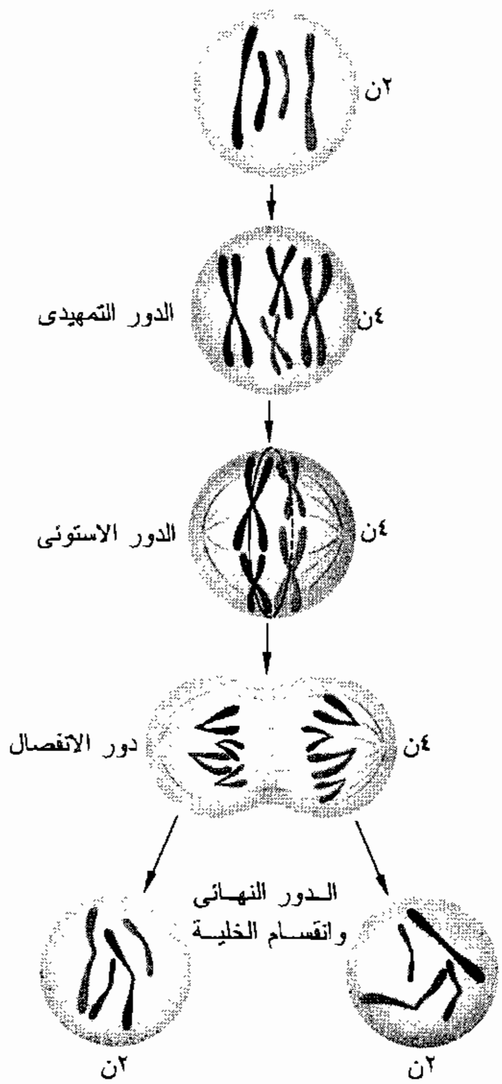
يحصل الفرد من حقيقيات النواة العليا eukaryotes على مادته الوراثية من أبويه ، حيث يشترك كل منهما بالنصف : فيصلهُ من جاميطة

gamete الأب (الحيوان المنوى أو حبة اللقاح) لولب مزدوج ، ويأتيه من جاميطة الأم (البويضة) لولب مزدوج آخر . ولما كان اللولب فى هذه الكائنات طويلاً فإنه يوزع إلى عدد من الكروموزومات فيحصل الفرد على نصف كروموزوماته من الأم والنصف الآخر من الأب .

والكروموزوم جسم عصوىّ الشكل يتكون من بروتين وجزىء دنا ، ويتألف من ذراعين بينهما سنترومير centromere ، ويحده فى كل من طرفيه تيلومير telomere . لايمكن رؤية الكروموزومات بالميكروسكوب إلا فى مراحل معينة من انقسام الخلية . ولكل نوع من حقيقيات النواة فى خلاياه الجسدية عدد معين من أزواج الكروموزومات (واحد من كل زوج آتٍ من الأم والآخر من الأب) : للإنسان مثلاً ٢٣ زوجاً ، وللفأر عشرون زوجاً ، وللدروسوفيلا أربعة أزواج ، وللقمح ٢١ زوجا ، وللأذرة عشرة أزواج . تختلف الكروموزومات بالنوع الواحد فى الحجم ، كما يمكن تمييزها عن بعضها داخل النواة أثناء الانقسام بصبغها بصبغات خاصة ليظهر كل زوج من الكروموزومات بنمط خاص من التشريط banding يختلف عن غيره .

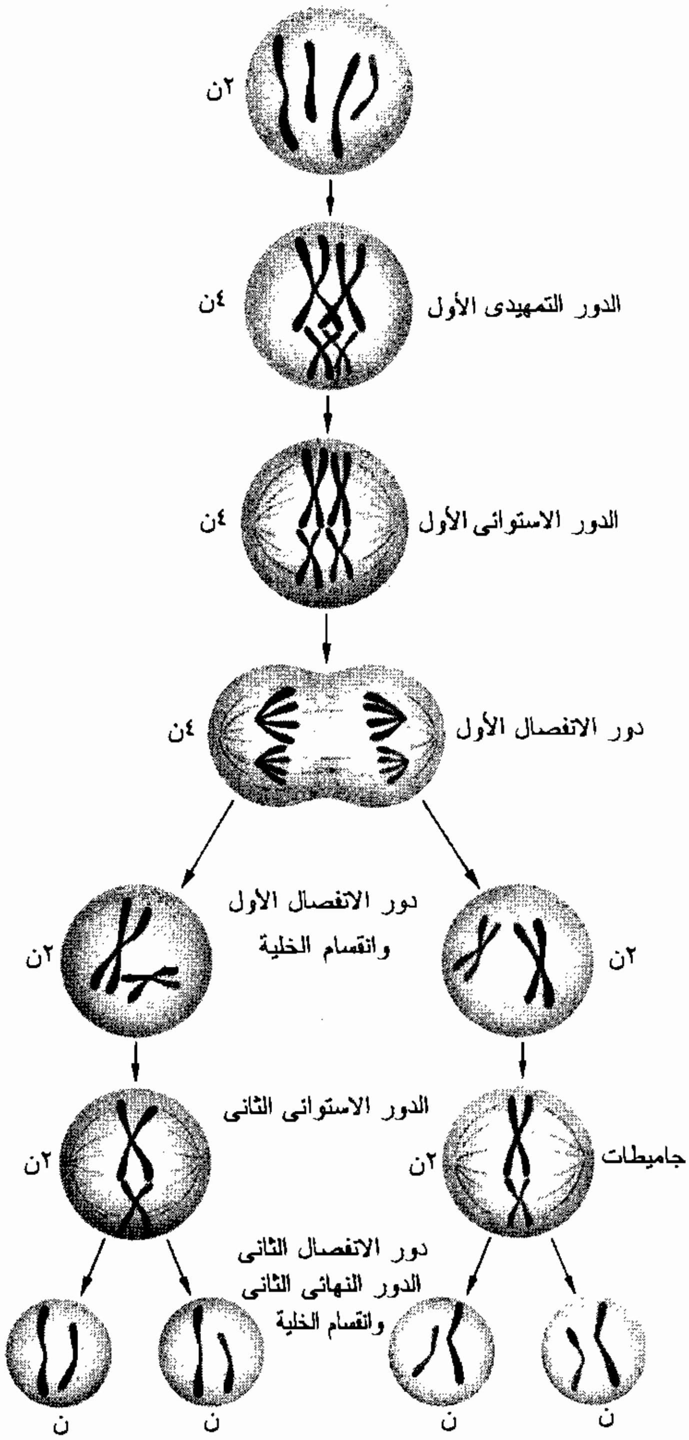
فى أثناء انقسام الخلايا الجسدية يصنع كل كرموزوم بالنواة صورة طبق الأصل منه ، ثم تنقسم الخلية بانقسام يسمى الانقسام الميتوزى mitosis ، إلى اثنتين تحمل كل منهما نسخةً من كل كروموزوم لتكون مطابقة تماماً للخلية الأم . أما الخلايا الجنسية (الحيوانات المنوية أو حبوب اللقاح أو البويضات) فتحمل نصف عدد الكرومزومات ، واحداً من كل زوج (بحيث إذا أخْصَبَت خليةٌ ذكرية خليةً أنثية نتجت خلية جسدية تسمى الزيجوت zygote تحمل الطاقم الوراثى كله – لتنقسم حتى تكّون جسد الفرد الجديد) . يتم اختزال عدد الكروموزومات إلى النصف عن طريق انقسام منصّف يسمى الانقسام الميوزى meiosis . فى أثناء هذا الانقسام يحدث كثيراً بعد أن ينشق كل كروموزوم إلى كروماتيدتين متطابقتين chromatids أن يتم تبادل مقاطع من الدنا بين كروماتيدتين لكروموزومين رفيقين homologues ، فيما يسمى

بالعبور crossing over ، بحيث تحمل كل منهما بعد العبور جزءاً نظيراً من المادة الوراثية بالأخرى ، أى تصبح المادة الوراثية فى كل منهما مُؤَشَّبة recombinant بها مزيج من المادة الوراثية لكروموزومي الأبوين سوياً .



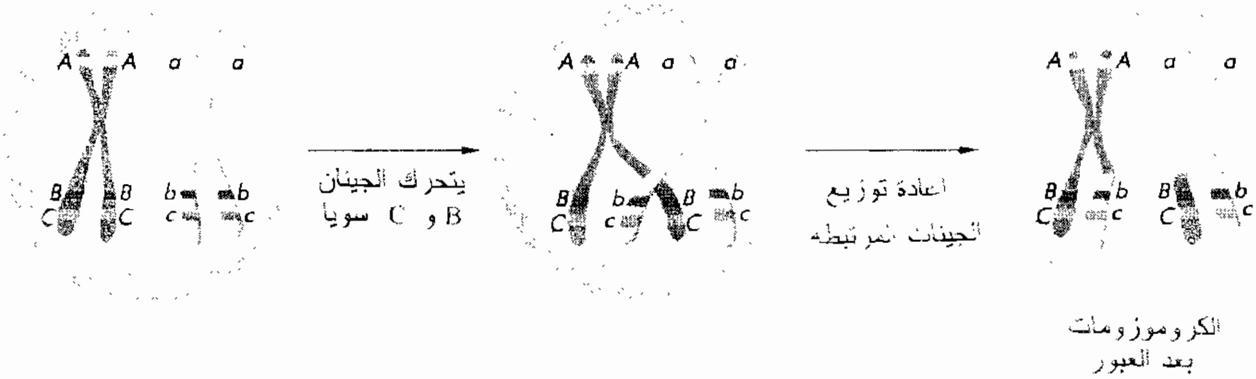
الشكل رقم (٨)

رسم توضيحى للانقسام الميتوزى



الشكل رقم (٩)

رسم توضيحى للانقسام الميوزى



الشكل رقم (١٠)

رسم توضيحى لعملية العبور

البكتـــــــــريــــا
bacteria

تتألف البكتريـا كمـا ذكرنـا مـن خليـة واحـدة وتحمـل مادتهـا الوراثيـة (جينومها) فى الستيوبلازم بلا نواة . والمادة الوراثية للبكتريا النمطية تتكون أساساً من دنا ثنائى الجديلة ، عادة ما يتخذ شكل كروموزوم حلقى ، ويبلغ طوله النمطى نحو أربعة ملايين زوج من القواعد (٤ مليون زق) . والكثير مـن البكتريـا يحمـل فـى سيتوبلازمه أيضـاً عـدداً مـن جزئيـات دناويـة ثنائيـة الجديلة توجد فى صورة حلقات صغيرة تسمى بلازميدات plasmids يبلغ طولها النمطى بضعـة آلاف مـن أزواج القواعد (طـول البلازميد pBR322 يساوى ٤٣٦٢ زق) . والعادة أن تحمل الخلية البكتيرية الواحدة نوعـاً واحـداً من البلازميدات . وقد لاتكون الجينات بالبلازميدات أساسية حقاً لحياة البكتيرة bacterium ، لذا فإنها قد تترك بكتيرة وتدخل أخرى ومعها ما تحمله من هذه الجينـات . والبعـض مـن هـذه البلازميـدات (البلازميـدات الرخـوة relaxed plasmids) يستطيع أن يكاثر نفسه بكفـاءة داخـل الخليـة البكتيريـة عشـرات

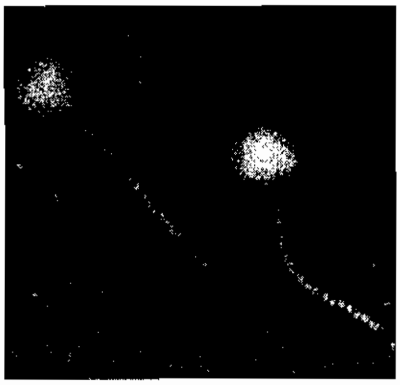
المرات ، مستقلاً عن تضاعف الدنا الأساسى للبكتيرة . (وهذه البلازميدات الرخوة هى التى يستخدمها المهندس الوراثى) . بل إن البلازميد يستطيع أن يدمج نفسه داخل الكروموزوم الأساسى للبكتيرة ، ثم يهجره ثانية وهو يحمل جزءاً من دناه ، ولقد يخرج البلازميد عندئذ من البكتيرة ليدخل أخرى محمـلاً بهذا الجزء .

الفيروسات
viruses

أما الفيروسات التى تتطفل على معظم الكائنات الحية — حتى البكتريا — فتقع فى منطقة ما بين المادة الحية وبين مجرد تجمع من جزيئات عملاقة : فهى تحيا ، لكنها لا تستطيع أن تكاثر نفسها إلا بمعونة كائن حى . يتكون الفيروس من مادة وراثية يحيط بها غلاف بروتينى protein coat من الجليكوبروتين glycoprotein . تكون المادة الوراثية عادة من الدنا ، الذى يؤلف عدداً من الجينات ، فى صورة شريط أو حلقة ، ويبلغ طوله النمطى نحو ٥٠ ألف زق . وقد تمت سَلْسَلَةُ الجينومات الكاملة لبعض الفيروسات (وعرف عدد أزواج القواعد بها) نذكر منها :

الفيروس	عدد أزواج القواعد فى الجينوم
١ - فاج SV 40	٥٢٤٣
٢ - فاج فاى إكس ١٧٤	٥٣٨٦
٣ - فاج ج ٤ G4	٥٥٧٧
٤ - ت ٧ T 7	٣٩٩٣٦
٥ - لنضا	٤٨٥١٣
٦ - إيشتاين بار Epstein - Barr	٧٢٢٨٢





ب

الشكل رقم (١١)

صورة للفيروسات البكتيرية : (أ) فاج ت ٤ مكبراً ٢٠٠٠٠٠ مرة
(ب) الفاج لنضا مكبراً ١٦٨٠٠٠ مرة

يعتمد الفيروس فى تكاثره على الخلية العائل host cell ، فيُسَخّر آليات النسخ فيها وآليات الترجمة والتضاعف للإكثار من جيناته ، لتخرج الفيروسات الجديدة من الخلية ـ ربما بعد أن تقتلها ـ وتصيب غيرها .

هناك فيروسات تتكون مادتها الوراثية من الرنا (وحيد الجديلة) ، لا الدنا ، منها زمرة تسمى الفيروسات الارتجاعية retroviruses ، تقوم عند دخولها الخلية العائل (وهى لا تصيب إلا الخلايا التى تنقسم) بنسْخٍ عكسى لرناها reverse transcription ، لتشكل نسخة دنا وحيد الجديلة ، بها تصنع جديلة الدنا المكملة لتصبح لولباً مزدوجاً ينغرس فى دنا الخلية العائل ويصبح جزءاً منه ، يتضاعف معه ، فيُنسخ ويُترجَم لتخرج عنه نُسَخ من الرنا الفيروسى والأغلفة البروتينية الفيروسية ، تتشكل منها فيروسات جديدة تخرج من الخلية لتصيب غيرها . (وفيروس الإيدز AIDS من بين الفيروسات الارتجاعية) . [وعلى الذِّكْر ، يشكل مثل هذا الدنا ما يصل إلى ١٪ من دنا الجينوم البشرى] .

إنزيمـــات التحديـد أو البتـــر
restriction enzymes

تقوم خلايا البكتريا ـ للدفاع عن نفسها ضد ما يصيبها من فيروسات (وتسمى مثل هذه الفيروسات باسم لاقمات البكتريا أو الفاجات bacteriophages or phages) بإنتاج إنزيمات تمزق هذه الفيروسات وتحد من انتشارها . يطلق على هذه الانزيمات اسم إنزيمات البتر أو التحديد restriction enzymes or endonucleases . اكتُشفت هذه الانزيمات منذ نحو ٣٥ عاماً ، وعُرف منها الآن أكثر من أربعمائة . يقوم أى من هذه الإنزيمات بقطع شريط الدنا كمقص منمنم إذا ما تعرف على تتابع معين recognition sequence طوله عادة ما بين ٤ و ٨ نوتيدات فَيبتره بين قاعدتين بذاتهما . (تَرقُمُ البكتريا المنتجة للإنزيم ما يحمله دناها من هذا التتابع بإضافة ذرة كربون لبضع قواعد منه ، فتحفظ بذلك جهازها الوراثى) . قد يكون مكان البتر منحرفاً عن وسط التتابع ليترك مكان القطع بالجديلتين بأطراف لزجة sticky ends ، وقد يكون البتر بوسط التتابع تماماً فيترك مكانُ القطع الجديلتين بأطراف جافة blunt ends . من أكثر هذه الانزيمات شيوعاً إنزيم

ايكور ١ EcoR 1 (عن اسم البكتريا أ . كولاى) وهذا يتعرف على تتابع من ست نوتيدات هى ٥َ ـ ج أ أ ث ث س ـ ٣َ ، ويقطع ما بين القاعدتين ج ، أ :-

٥َ ـ ج . أ أ ث ث س

س ث ث أ أ . ج ـ ٥َ

والجدول بالصفحة التالية يبين بعض إنزيمات التحديد ، والبكتريا المنتجة لها ، والتتابعات التى تعمل عليها وموقع البتر (يرمز له بنقطة) وشكل الأطراف بعد البتر . وسنلاحظ أن كل هذه التتابعات تقرأ نفس الشىء على كلتا الجديلتين فى الاتجاه ٥َ ـ ٣َ .

الإنزيم	البكتريا المنتجة	التتابع على الجديلتين وموقع البتر	الأطراف بعد البتر
Alu I	*Arthrobacter luteus*	٥َ ـ أ ج . س ث س ث . ج أ ـ ٥َ	جافـــة
EcoRI	*Escherichia coli*	٥َ ـ ج . أ أ ث ث س س ث ث أ أ . ج ـ ٥َ	لزجـــة
HaeIII	*Haemophilus aegytius*	٥َ ـ ج ج . س س س س . ج ج ـ ٥َ	جافـــة
HhaI	*Haemophilus haemolyticus*	٥َ ـ ج س ج . س س.ج س ج ـ ٥َ	لزجـــة
Hind III	*Haemopilus influenzae*	٥َ أ . أ ج س ث ث ث ث س ج أ . أ	لزجـــة
Hpa I	*Haemophilus parainfluenzae*	٥َ ـ ج ث ث .أ أ س س أ أ . ث ث ج ٥َ	جافـــة
Mbo I	*Moraxella bovis*	٥َ ـ . ج أ ث س س ث أ ج . ـ ٥َ	لزجـــة
Not I	*Nocardia otitidis-cavarium*	٥َ ـ ج س . ج ج س س ج س س ج س س ج ج. س ج ـ ٥َ	لزجـــة
Pst I	*Providencia stuartii*	٥َ ـ س ث ج س أ . ج ج . أ س ج ث س ـ ٥َ	لزجـــة
Taq I	*Thermus aquaticus*	٥َ ـ ث . س ج أ أ ج س . ث ـ ٥َ	لزجـــة

تعمل إنزيمات التحديد على دنا أى كائن حى طالما وَجَدَت التتابعات التى تتعرف عليها . وعموماً فإن أكثر إنزيمات التحديد فائدة للمهندس الوراثى هى تلك التى يكون تتابع التعرف لها طويلاً ، بحيث يقل احتمال وجوده ، فينتج البتر عدداً محدوداً من الشظايا يمكن فصلها وفحصها : ذلك أنه إذا رتبت القواعد الأربعة للدنا (أ ، ث ، س ، ج) حيثما اتفق ، بفرض وجودها بنسب متساوية ، فإن احتمال حدوث تتابع بذاته من ستة حروف (مثل التتابع الخاص بإنزيم إيكور ١) سيكون مرة واحدة فى كل ٤٠٩٦ مرة (أربعة مرفوعة إلى الأس ٦) ، لأن كل موقع من الستة يمكن أن تشغله واحدة من أربع القواعد ـ أى أنك إذا أخذت عشوائياً تتابعات طول كل منها ٦ قواعد فستقابل هذا التتابع فى المتوسط مرة من كل ٤٠٩٦ مرة ـ فى حين أن هذا الاحتمال يكون مرة فى كل ٢٥٦ مرة إذا كان طول التتابع ٤ قواعد فقط. وعلى هذا فإنا نتوقع إذا عمل " باتر القواعد الأربع " على جينوم ، أن يحيله إلى عدد من الشظايا الدناوية يبلغ ستة عشر ضعف ما ينجم عن عمل " باتر القواعد الست " .

[والاحتمالات التى ذكرت بالفقرة السابقة صحيحة كما قلنا إذا افترضنا أن للقواعد الأربع فى الدنا نفس النسبة (الرُّبْع) ، لكن إيرفين شارجاف E . Chargaff الذى اكتشف أن كمية الأدنين فى دنا أى نوع تعادل كمية الثايمين فيه ، وأن كمية الجوانين تعادل كمية السيتوزين ، قد وجد أيضا أن نسبة القاعدتين أ ، ث سوياً إلى القاعدتين ج ، س معاً ، هى نسبة ثابتة فى دنا أى نوع species ، لكنها تختلف بين الأنواع . ولقد ساهمت قاعدة شارجاف هذه فى توصل واطسون وكريك إلى تركيب لولب الدنا المزدوج .]

الهندسة الوراثية
genetic engineering

ولقد وفرت الفاجات وبلازميات البكتريا ـــ وهى الكائنات ذات التضاعف الذاتى ـ المادةَ لعمل المهندس الوراثى ـ والهندسة الوراثية هى نقل

مقاطع من دنا كائن حى وإيلاجها فى دنا كائن آخر ، ووفرت إنزيماتُ التحديد له المقص الجزيئى المنمنم ، مثلما وفر له إنزيم آخر ، اسمه الليجيز ligase ، أو إنزيم الوصل ، الأداة لوصل المقاطع المنقولة ، بالدنا الذى ستولج فيه . ويطلق اسم الدنا المُطَعَّم (أو المَطعُوم) recombinant DNA على الدنا إذا ما أولج فيه دنا غريب . فلما كان للمادة الوراثية للكائنات الحية جميعاً نفس البنية الكيماوية ، فمن الممكن بالليجيزات أن نَصِل قِطَع دنا مأخوذة من بكتريا ، فى دنا نبات أو حيوان ، ومن الممكن أن نولج قطعة من دنا بشرى فى الجهاز الوراثى لنبات أو بكتيرة . نستطيع إذن أن نقول إن الهندسة الوراثية هى تقنية لإجراء عمليات جراحية على المستوى الجزيئى ننقل بها المادة الوراثية بين الكائنات الحية .

كيف إذن تجرى العملية الجراحية التى ننقل بها جين أو أى تتابع دناوى من كائن إلى آخر باستعمال إنزيمات التحديد ؟

لنفترض أننا سنستخدم إنزيم إيكور ١ الذى يبتر اللولب المزدوج للدنا ــ كما رأينا ــ مباشرة بعد القاعدة ج فى التتابع ٥َ ــ ج أ أ ث ث س ، وأننا نود أن نولج قطعة من دنا بشرى تحمل جيناً معيناً (أى امتداداً من القواعد ، ويُسَمَّى مُولَجَة insert) يحدها من الجانبين تتابع التعرف هذا ، أن نولجها فى بلازميد بكتيرى به فى حلقته الدناوية أيضا نفس هذا التتابع . قطعة الدنا البشرى ستكون :

الجديلة(١) ٥َ ــــ ج.أ أ ث ث س ــــ ج.أ أ ث ث س ــــ ٣َ

الجين البشرى

الجديلة(٢) ٣َ ــــ س ث ث أ أ .ج ــــ س ث ث أ . ج ــــ ٥َ

سيبتر إنزيم إيكور ١ بعد القاعدة ج (فى الاتجاه من ٥ إلى ٣) ، ليخرج الجين البشرى يحده فى الجديلة الأولى من الناحية ٥َ التتابع أ أ ث ث س ، ومن الناحية ٣َ القاعدة ج ، ويحده فى الجديلة (٢) القاعدة ج من اليمين والتتابع س ث ث أ أ (فى الاتجاه ٣َ ــ ٥َ) من اليسار . وبقايا التتابع على

جانبى الجين فى الجديلتين تشكل أطرافاً لزجة ، لأنها غير مقترنة بالقواعد المكملة ، وتبحث عنها " لتلتصق " بها . سيكون الجين إذن بعد عملية البتر بالانزيم فى الصورة التالية تحيط به الأطراف اللزجة :

الجديلة(١) ٥َ أ أ ث ث س ———— ج ٣َ

الجين البشرى

الجديلة(٢) ٣َ ج ———— س ث ث أ أ ٥َ

سنستخدم نفس الانزيم أيضاً على حلقة الدنا البلازميدية التى تحمل نفس موقع التعرف ، فيقطعها بنفس الشكل وتصبح :

٥َ ——— **ج**   **أ أ ث ث س** ——— ٣َ

٣َ ——— **س ث ث أ أ**   **ج** ——— ٥َ

(نستعمل الحروف السوداء لدنا البلازميد لتمييزه عن الدنا البشرى) . فإذا مزجنا نواتج البتر من الدنا البشرى والدنا البلازميدى وأضفنا إنزيم الليجيز ، قام الإنزيم بلحام الأطراف اللزجة فيهما ، فأولج الجين البشرى بأطرافه اللزجة فى الفراغ بحلقة البلازميد الذى تحده أيضاً أطراف لزجة تتكامل مع ما حول الجين .

٥َ ——— **ج** أ أ ث ث ت س ——— ج **أ أ ث ث س** ——— ٣َ

الجين البشرى

٣َ ——— **س ث ث أ أ** ج ——— س ث ث أ أ **ج** ——— ٥َ

نلاحظ الآن أن البلازميد قد تضخم بعد أن أولج فيه الجين البشرى ، وأصبح دَنَاهُ مُطَعَماً . كما نلاحظ أن التتابع الذى يعرفه إنزيم إيكور ١ لايزال يحد الجين البشرى فى موقعه الجديد داخل دنا البلازميد . من الممكن الآن أن يُسمح لهذا البلازميد الهجين المُطَعَّم بالولوج إلى بكتيرة ، حيث يمكن أن

يتضاعف ذاتياً ومع انقسام الخلية البكتيرية لننتج من الجين البشرى ما نشاء من النسخ ، فيما يسمى بالكَلْوَنَة cloning . (من الممكن أن تعطِى البكتيرة الواحدة ربع مليون بكتيرة فى ظرف ١٢ ساعة) .

من الملائم هنا أن نلاحظ أن ما يتبقى من تتابع قطعة الدنا البشرى ، بعد أن بُتر منها الجين بأطرافه اللزجة ، يمكن أن يُعاد التئامه بإنزيم الليجيز :

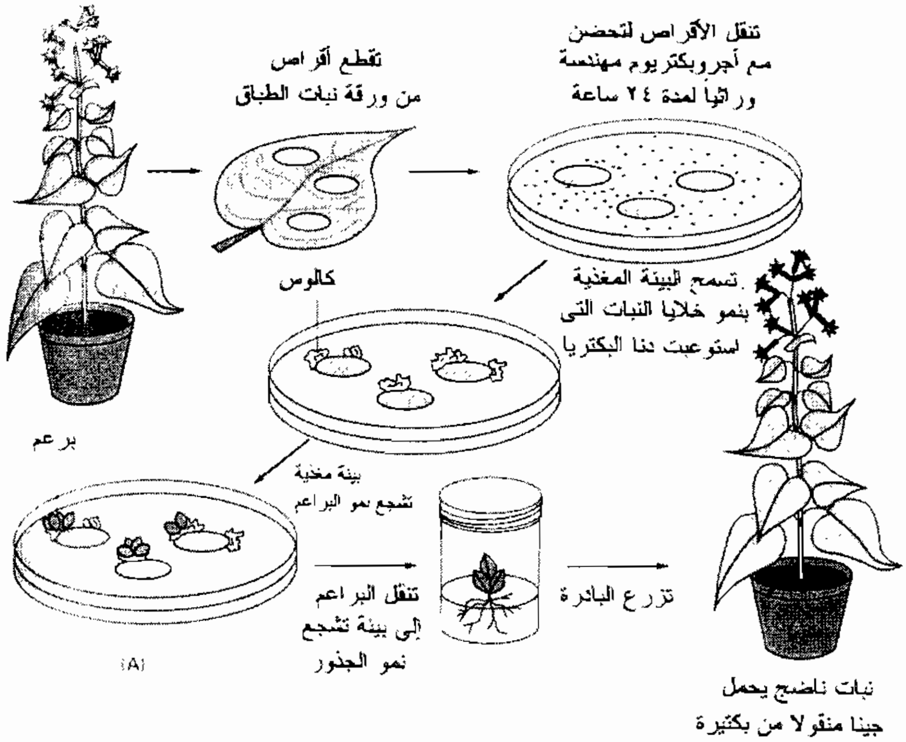
الجديلة(١) ٥َ ــــــ ج أ أ ث ث س ــــــ ٣َ

الجديلة(٢) ٣َ ــــــ س ث ث أ أ ج ــــــ ٥

لتكون النتيجة هى قطعة الدنا البشرى الأصلية وقد نُـزع منها الجين (ومعه تتابع واحد من : ج أ أ ث ث س) .

بالهندسة الوراثية ، أى بتكنولوجيا التطعيم الجينى ، نستطيع إذن أن ننقل جيناً من مادة وراثية لكائن إلى المادة الوراثية لكائن آخر ، كما نستطيع أن نحذف جيناً أو أى امتداد من قواعد الدنا .

هناك نوع من البكتريا يسمى أجروبكتريوم توميفاشنس *Agrobacterium tumefaciens* يسبب مرض التدرن التاجى crown gall لبعض أنواع نباتات ذوات الفلقتين dicotyledons ، وذلك لوجود بلازميد (طوله نحو ٢٠ كيلو قاعدة) تحمله هذه البكتريا يسمى بلازميد تى Ti plasmid (tumor inducing plasmid) ، إذ تنفرد بعض هذه البلازميدات من البكتريا عندما تصيب النبات ، فتدخل خلاياه ، ويندمج بعض من دناها فى أحد كروموزوماته ليسبب النمو السرطانى المَرَضى . من الممكن أن يُستخدم هذا البلازميد فى نقل جين غريب ، أو أى تتابع دناوى غريب ، إلى خلايا النبات ، وذلك بأن نُطَعِّم هذا الجين فى البلازميد بعد حذف مايحمله من الجينات المسببة للمرض النباتى . تؤخذ خلايا النبات بعدئذ ، بعد أن طُعِّمت مادتها الوراثية بالجين الغريب ، لنستزرعها بتقنية زراعة الأنسجة tissue culture ، التى يمكن فى نهاية الأمر أن تعطى نباتات كاملة تحمل الجين الغريب المعنى .



الشكل رقم (١٢)

انتاج نبات عبرجينى باستعمال البكتيريا



الشكل رقم (١٣)

التدرن الذى يسببه الأجروبكتيريوم توميفاشنس

بمثل هذه الطريقة يمكن أن " نُجَوِّف " فيروساً ارتجاعياً ، فننزيل منه الجينات المُمْرِضة ، وأن نضيف مكانها مثلاً جيناً بشرياً . فإذا ما تركنا هذه الفيروسات المحورة تلج خلايا بشرية (خلايا الدم مثلاً) ، فإنها كما ذكرنا ستدمج مادتها الوراثية فى الكروموزومات البشرية ، فتقوم هذه بإنتاج البروتين الذى يشفِّر له الجين المنقول .

الفيروسات والبلازميدات يمكن إذن أن تستخدم كناقلات vectors ننقل عليها الجينات من كائن حى إلى آخر فى تكنولوجيا الهندسة الوراثية . وهناك نُظُم أخرى تستخدم أيضاً فى النقل ، منها الكوزميدات cosmids (وهذه هجن ما بين بلازميدات وفاجات لنضا يمكنها أن تحمل قطعاً من الدنا الغريب يصل طولها إلى ٤٠ ألف زق) ، ومنها كروموزومات الخميرة الاصطناعية (الياكات) (YACs (yeast artificial chromosomes) التى قد تحمل بضع مئات الآلاف من الدنا الغريب) ، ومنها بعض المعاملات الكيماوية التى تسهل استيعاب خلايا النبات للدنا ، بعد إزالة جدرها السميكة لتصبح خلايا عارية (بروتوبلاستات protoplasts) (مثل المعاملة بالبولى إثيلين جليكول (polyethylene glycol (PEG) ، ومنها الثَّقْب الكهربائى electroporation (الذى يفتح ثقوباً فى أغشية الخلايا تمر منها الجينات المطلوب نقلها) ، ومنها الحَقْن الدقيق microinjection للجينات فى الخلايا . ثمة " مسدس جسيمات " particle gun يُطلَّق منه الدنا المُحَمَّلُ فوق سطح جسيمات معدنية (من الذهب) على أسطح الخلايا ، فيمر إلى السيتوبلازم من خلال جدر الخلايا وأغشيتها .

الخرائط الوراثية
genetic maps

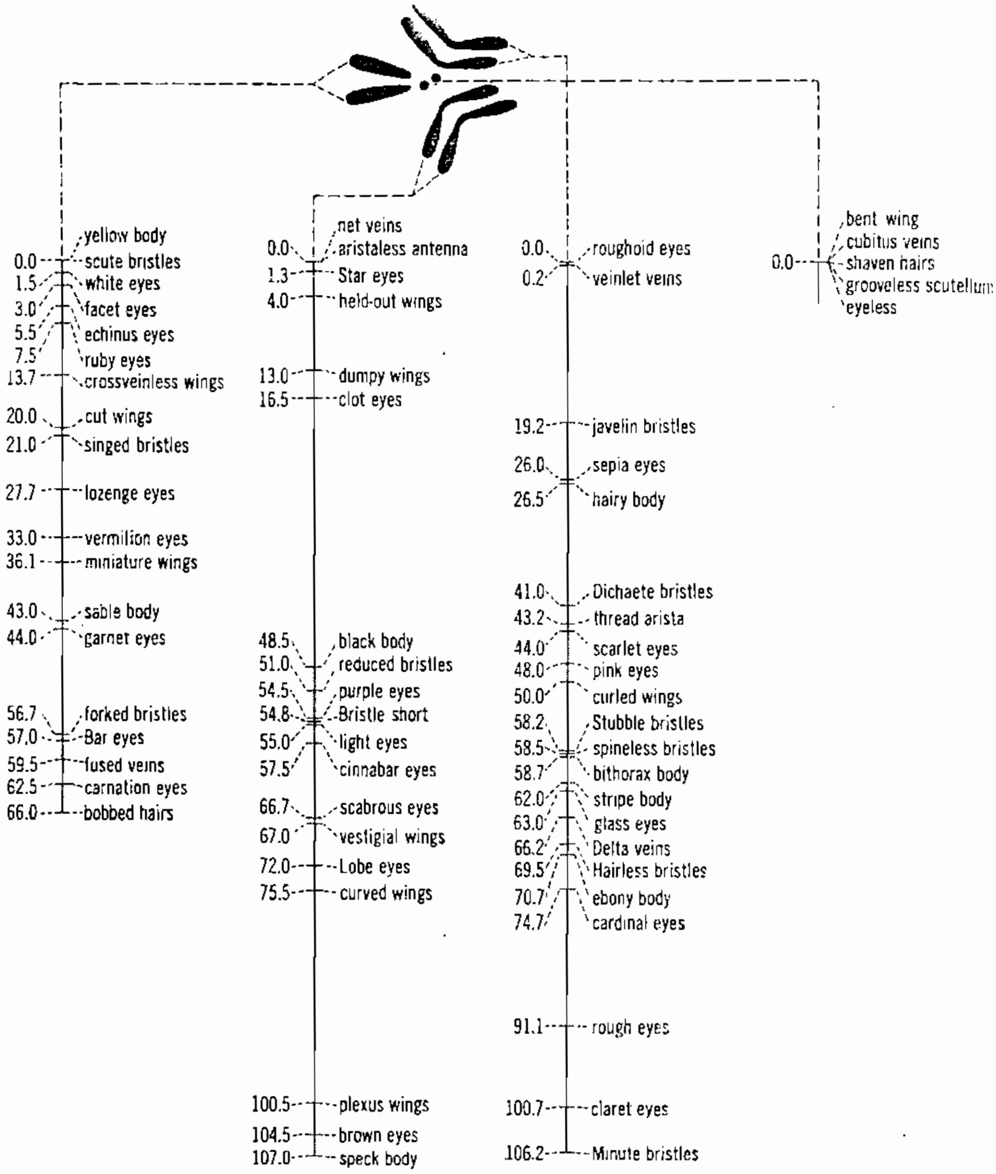
وقع الراهب النمساوى جريجور مندل Gregor Mendel (١٨٢٢ – ١٨٨٤) على فكرة الجين gene (وأطلق عليه اسم العامل factor) بعد

بحوث طويلة ، بدأها عام ١٨٥٤ ، على سبع صفات فى نبات بسلة الزهور (منها لون الحبة : أخضر أم أصفر ، ارتفاع النبات : طويل أم قصير ... إلخ) . قال إن كل صفة فى النبات تتوقف فى وراثتها على عاملين ، أى أَلِيلَيْن alleles ، واحد يأتى من الأب والآخر يأتى من الأم ، وأن عوامل الصفات المختلفة تتوزع مستقلة عن بعضها لا تمتزج (فيما يسمى قانون التوزيع الحر أو المستقل law of independent assortment) . كما لاحظ أن بعض الأليلات (العوامل) سائد dominant ، أى تكفى نسخة واحدة منها فى النبات ــ تأتى عن الأب أو عن الأم ــ لكى تعبر الصفة عن نفسها ، وأن البعض الآخر من الأليلات متنحٍّ recessive ، أى يلزم أن يحمل النبات منها نسختين (واحدة من الأب والأخرى من الأم) كى تعبر الصفة عن نفسها . لكل صفة إذن أليلان : واحد سائد (A مثلاً) وآخر متنح (a) ، ولها فى الأفراد ثلاثة تراكيب وراثية genotypes : واحد أصيل homozygote للأليل A (ويحمل فيه النبات نسختين من هذا الأليل ، أى يكون تركيبه الوراثى AA) ، وواحد أصيل للأليل a (ويحمل نسختين من الأليل a ، وتركيبه إذن aa) ، وثالث خليط heterozygote يحمل نسخة من كل من الأليلين (أى : Aa) . أما مظهر الأفراد phenotype فيكون فئتين : مظهر سائد (ويبين فى الأفراد ذات التركيب الوراثى AA و Aa) ومظهر متنح (وَيَبِينُ فقط فى الأفراد ذات التركيب الوراثى aa) .

نشر مندل بحثه الذى يقع فى ٥٥ صفحة فى " أعمال جمعية العلوم الطبيعة فى برون Brunn " عام ١٨٦٦ (قبل اكتشاف ميشر للدنا بثلاث سنوات) ، لكن البحث ظل مجهولاً حتى عام ١٩٠٠ ، عندما أعاد اكتشافه ثلاثة من علماء النبات الأوربيين كل على حدة (هوجو ده فريز فى هولنده ، إريخ فون تشيرماك فى النمسا ، كارل كورينز فى ألمانيا) ، فدبت الحياة ثانية فى علم الوراثة genetics .

وبدءاً من عام ١٩١٠ ، ولفترة بلغت نحو أحد عشر عاماً ، قام توماس هنط مورجان T.H. Morgan بإجراء تجارب مكثفة على حشرة ذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) Drosophila ، أثبت فيها أن الجينات توجد فى ترتيب خطى linear على الكروموزومات الموجودة داخل نواة الخلية ، وأن الجينات التى تقع على نفس الكروموزوم تكون مجاميع ارتباطية linkage groups (فالتوزيع الحر يكون فقط بالنسبة للجينات الواقعة على كروموزومات مختلفة ، أو بالنسبة للجينات المتباعدة جداً على كروموزوم طويل) ، وأنه من الممكن بحساب معدل العبور crossing over بينها معرفة مواقعها بالنسبة لبعضها : كلما ازدادت المسافة بين جينين على نفس الكروموزوم كلما ازدادت نسبة حدوث العبور بينهما . تمكن مورجان ومعاونوه على عام ١٩٢٢ من تحليل ورسم خريطة لكروموزومات الدروسوفيلا الأربعة ، توضح المواقع النسبية لأكثر من ألفى جين موزعة عليها . تحسب المسافات بين الجينات فى خرائط الارتباط هذه linkage maps بوحدات تسمى السنتيمورجان ، والسنتيمورجان يعادل نسبة ١٪ عبور .

فإذا عرفنا أن جينا يقع على كروموزوم معين ، أمكن أن نضم إليه آخر إذا وجدنا أن هذا الأخير لا يتوزع مستقلاً عنه ، لنضم الاثنين معاً فى مجموعة ارتباطية ، ونحدد المسافة بينهما بالسنتيمورجان ، ثم أننا نستطيع أن نضم إليهما جيناً ثالثاً فرابعاً وهكذا . الجينات التى نبدأ بها ونضيف إليها غيرها فى المجموعة الارتباطية تسمى واسمات markers . ولقد كان لون العين البيضاء فى الدروسوفيلا (ولون عينها الطبيعى أحمر) هو أول جين لكائن حى ينسب إلى كروموزوم بذاته . كان الكروموزوم هو كروموزوم الجنس (كروموزوم س ، x) . فالذكر فى الدروسوفيلا (وفى الحيوانات العليا غير الطيور والفراشات) يحمل كروموزوم س واحداً وكروموزوم ص (وهذا الأخير فارغ وراثياً تقريباً) بينما تحمل الأنثى كروموزومى س .



الشكل رقم (١٤)

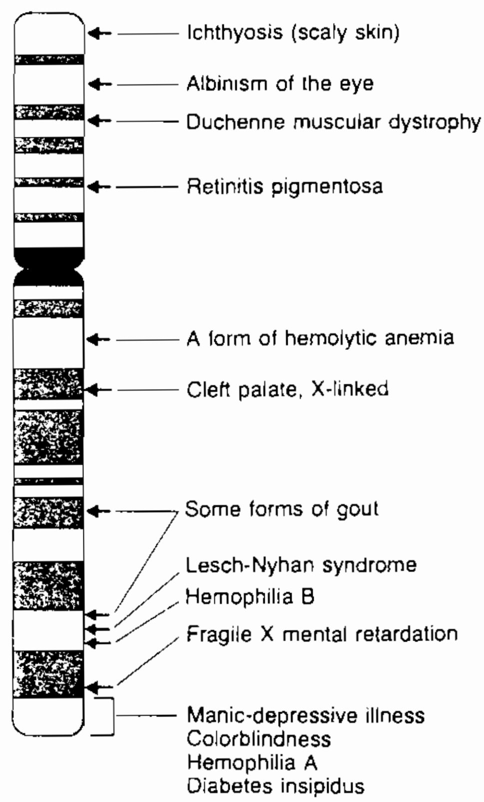
خريطة ارتباط وراثية للكروموزومات الأربعة لحشرة الدروسوفيلا ميلانوجاستر ، توضح المواقع النسبية لبعض الجينات الهامة . الأرقام تشير إلى المسافات من الطرف العلوى للكروموزوم ، كما حددتها نسب العبور فى تجارب الارتباط .

الأنثى إذن تحمل أليلين عند أى موقع locus على كروموزوم الجنس ، بينما يحمل الذكر أليلاً واحداً لابد أن يأخذ من أمه (فكروموزوم الجنس الثانى به هو ص الفارغ الذى لابد أن يصله من الأب) . وعلى هذا فإن الذكور من نسل الأمهات الخليط ـ عند أى موقع على كروموزوم س ، ستكون من فئتين مظهريتين : النصف سائد والنصف متنح ـ أيا كان مظهر الأب (الذى لاينقل بالطبع كروموزومه س إلى الذكور من نسله) . يُتَّخذ مثل هذا الجين إذنْ واسماً ليلحق به غيره على نفس الكروموزوم .

يحمل الإنسان فى كل خلية من خلايا جسمه (عدا كرات الدم الحمراء الناضجة) جينوماً genome يتألف كما ذكرنا من ثلاثة وعشرين زوجاً من الكروموزومات (اثنين وعشرين زوجاً من الأوتوزومات atuosomes ، وزوجاً من كروموزومات الجنس) ولقد كان أول جين بشرى ينسب إلى كروموزوم موجوداً أيضاً على كروموزوم الجنس ـ جين عمى الألوان color blindness .

كانت خَرْطَنة mapping الجينات إذن تعتمد على التهجين والعَدّ crossing & counting . كانت خريطة الارتباط لكل كروموزوم عبارة عن خط تُصَفُّ عليه مواقع الجينات وأسماؤها متسلسلة ومتباعدة بعدد السنتيمورجانات الذى قالت به تجارب التهجين . لكن لم يكن ثمة ربط بين هذه الخريطة وبين الجسم الفيزيقى للكروموزوم . ثم حدث أن لاحظ مورجان إن إحدى الصفات المرتبطة بالجنس تسلك فى بعض حشراته سلوك الجينات على الأوتوزومات (الكروموزومات غير كروموزومى الجنس) ، واكتشف بالفحص السيتولوجى بالميكروسكوب أن بعضاً من كروموزوم الجنس س قد انتقل إلى أوتوزوم والتصق به . هذا البعض الفيزيقى من كروموزوم س لابد أن يكون حاملاً لجين الصفة .

والإنسان ليس بالكائن النموذجى لإجراء التجارب الوراثية . فعدد الأفراد فى معظم العائلات عادة مايكون محدوداً ، ثم إنك لا تستطيع معه بالطبع أن تجرى " تهجينات موجَّهة " . أمكن بالطبع أن ترسم خريطة سيتولوجية لكروموزوماته ، وصورة تخطيطية لها تبين تميزها بالشرائط عند الصبغ . لكن كيف لنا أن نعرف أن جيناً ما يقع على كروموزوم بذاته (غير س) ؟ كان من الممكن تَتَبُّعُ بعض ما يحدث من أخطاء كروموزومية عند تكوين الجاميطات gametes (الحيوانات المنوية والبويضات) . كُشف فى صبى أمريكى عن وجود اقتضاب deletion ضاعت فيه قطعة صغيرة من كروموزوم س ، وكان الصبى مصاباً بالعمى الوراثى والحثل العضلى muscular dystrophy وعَجْزٍ فى جهازه المناعى . الجزء الناقص المُقْتضب من كروموزوم س سيُفترض أنه يحمل الجينات الصحيحة الطبيعية التى يتسبب غياب منتجاتها فى ظهور هذه الأعراض (بل لقد أعطى هذا الاقتضاب فعلاً الإشارة الصحيحة للوصول إلى المنطقة التى تحمل جين الحثل العضلى) .



الشكل رقم (١٥)

رسم تخطيطى لمواقع بعض جينات الأمراض على كروموزوم س فى الانسان

يحدث إذا نُمِّيت فى مستنبت بالمعمل خلايا بشـرية مع خلايـا فـأر أن تندمج خلايا النوعين فتظهر خلايا تحمل جينومى الإنسان والفأر سوياً . إذا ما بدأت هذه الخلايا الهجين فى الانقسـام بـدأت بعض الكروموزومـات تختفـى . والكروموزومات التى تختفى تكون دائماً من كروموزومات الإنسان لا الفأر ـ كـأن كروموزومـات الفـأر تطـرد كروموزومـات الإنسـان . أمكـن أن تُسـتنبط خطوط lines من هذه الخلايا الهجين تحمل كروموزومات الفأر وكروموزوماً بشـرياً واحـداً ، أو قطعـة منـه ــ ويمكـن بسـهولة التـأكد مـن ذلـك بـالفحص الميكروسكوبى . بذلك أمكن ان تُنسَب جينات بشرية إلـى كرومـوزوم بعينـه ، بل وحتى إلى منـاطق أو شـرائط بعينهـا ، بـل وحتـى إلـى منـاطق أو شـرائط معينة من كروموزوم بذاته ـ وذلك بفحـص البروتينـات البشـرية التـى تنتجهـا الخلايا الهجين ، والتى قد عُرف منها الكثير .

الرفليبيـــــات
RFLPs

نحتـاج إلـى الواسـمات عندمـا نريـد تحديـد مواقـع الجينـات علـى الكروموزومات ــ فإليها ننسب غيرها . ولقد قدمت إنزيمات التحديد حلاً رائعاً ، باعتبار أن الجين عبارة عن تتـابع مـن النوتيـدات . علـى جديلـة الدنـا كمـا عرفنا توجد مواقع التعرفـrecognition sequences التى عندهـا يبتـر الإنزيـم المعين الشريط . تشظى الإنزيمات جينيومَ أى كائن حـى إلـى عـدد كبـير مـن القطع قد يصل فى الإنسان إلى مليون قطعة . وتتراوح أطوال هذه المُزَق مـا بين بضع عشرات الآلاف وبضع آلاف من أزواج القواعد . ولقد عُـرِف عنـد استخدام إنزيم تحديد معين على مقطعىْ دنا DNA segments من نفس الموقع فى كروموزوميـن شـقيقين لفـرد ، يحمـل كـل منهمـا أليـلا مختلفـاً لجيـن ، أن الشظايا الناتجة عن البتر قد تختلف طـولاً ــ ذلـك أن أحـد الأليليـن قـد يحمـل تتابع التعرف ، فيُبتَر ، بينما لا يحمله الأليل الآخر فينجـو مـن البـتر . تسـمى

الشظايا مختلفة الأطوال الناتجة عن فعل إنزيم التحديد باسم " تباينات طول شظايا التحديد " أو الرفلييات restriction fragment length polymorphisms (RFLPs) . طبيعى أنْ قد توجد مواقع التعرف أيضاً فى جوار الجينات وليس بالضرورة فى تتابعها المشفِّر ، فقد نجدها فى تتابعات التنظيم وفى الإنترونات وفى سقط الدنا . ولقد عرف حتى الآن مايزيد على ٢٠٠٠ رفليب حُدِّدت مواقعها على طول الكروموزومات البشرية كلها . كما اتضح أن الرفلييات قد تتسبب فى زيادة ما نعرفه من أليلات الجين الواحد ، فثمة اختلافات يمكن كشفها بين الأفراد عند سَلْسَلة sequencing الدنا تُظْهِرها الرفلييات ، لكنها لاتبين فى المظهر (الذى تستخدمه خرائط الارتباط) . ومعنى ذلك أن المظهر الواحد (الذى قد يكون مرضا وراثياً) قد ينجم عن أليلات مختلفة دناوياً ، كلٌ ينشأ عن طفرة mutation فى مكان مختلف من نفس الجين تفسد عمله .

تورث الرفلييات بطريقة مندلية عادية ، فكل رفليب يعادل طفرة ، بل هو طفرة ، ويمكن تتبعها بتحليل الدنا فى الأجيال المتتابعة . بل ومن الممكن أن تستخدم فكرة العبور وخرائط الارتباط فى تحديد مواقع الرفلييات : كلما تباعدت مواقعها على الكروموزوم كلما ازدادت نسبة العبور بينها . بل وقد يُمْزج بين مواقع الجينات فى هذا الشأن ، فنقدر المسافة بين رفليب وجين . ولقد أفادت الرفلييات كثيراً فى تشخيص العديد من الأمراض الوراثية البشرية – بل إن رفليباً قريباً جداً من جين مرض ما قد يصلح كدليل قوى إلى تشخيص مرض وراثى .

ومجموعة الشظايا التى يخلفها أى إنزيم تحديد بعد عمله على جينيوم أى كائن حى ، تعتبر من الخصائص المميزة لهذا الجينوم ، ومن الممكن بسهولة إذا كان حجم الجينوم صغيراً أن تستخدم فى رسم خريطة فيزيقية له ، أما إذا كان حجم الجينوم كبيراً ، فمن الممكن أن يستعان بالكمبيوتر لرسم مثل هذه الخريطة .

وقد يفيد أن نذكر أن السنتيمورجان ، الذى يقاس به البعد بين الجينات على خرائط العبور ، يعادل عدداً يختلف من أزواج القواعد على الخريطة الفيزيقية الدناوية ، لكنه يبلغ فى المتوسط نحو مليون زوج من القواعد .

الفنترات
VNTRs

يحدث كثيراً أن يقع جينوم الكائن الحى على تتابع بلا معنى ــ تتابع مؤلف من عدد يتراوح عادة ما بين زوجين و ٦٠ زوجاً من القواعد ــ فيكرره مرات ومرات متجاورة يختلف عددها كثيراً بين الأفراد ، ويتراوح ما بين ٣ ــ ٦٠ مرة ، فإذا ما هُضِم الدنا بإنزيم تحديد يقطع على جانبى موقع المكررات ، نتجت رفليبات يتباين طولها كثيراً بين الأفراد باختلاف عدد المكررات التى يحملها كلٌ . يسمى أىٌ من مثل هذه المواقع ــ ومنها الكثير جداً بالجينيوم البشرى ــ باسم " المكررات الترادفية المتباينة العدد " variable number of tandem repeats (VNTRs) . وهذه الفنترات تُسَهِّل تمييز الأفراد ، لكثرة التباين فى عدد المكررات بينهم ، أما فى الرفليبات العادية فإن قِطَع الدنا الناتجة عن البتر بإنزيم التحديد ستتماثل ما بين الأفراد ، مالم تكن طفرة قد أفسدت موقع التعرف . لذا تخدم هذه الفنترات فى تعريف هوية الأشخاص بتحديد ما يسمى البصمة الوراثية genetic fingerprint (التى لايمكن تزويرها أو إخفاؤها) . تستخدم البصمة الوراثية كثيراً الآن فى ساحات القضاء بأوروبا وأمريكا .

مكتبة الجينوم
genome library

رأينا أننا نستطيع أن نولج قطعة من دنا أى كائن حى فى بلازميد بكتيرى ـ أو فى المادة الوراثية لفيروس أو فاج ، لنكَلّون البلازميد المُطَعَّم

داخل البكتيرة الملائمة ، حيث يتكاثر فيها ومعها منتجا ما نشاء من نُسَخ قطعة الدنا المولَجة هذه . فى استطاعتنا إذن أن نكلون جينوما كاملاً لكائن حى ، أو كروموزوماً بعينه من كائن حى ، فى بلازميدات تحمل أجزاءه ، وذلك بأن نعرِّض هذا الجينوم أو الكروموزوم إلى إنزيم تحديد يُشظِّيه ، ثم تمزج الشظايا ببلازميدات عوملت أيضاً بنفس الإنزيم ، لتَسْتَوعب داخلها شظايا الجينوم أو الكروموزوم بالطريقة التى وُصفتْ قبلاً . تكلون بعد ذلك البلازميداتُ كلٌّ داخل بكتيرة ، تُنَمَّى فى مستنبت لتكوّن مستعمرة colony ، لتشكل مجموعةُ هذه المستعمرات مكتبةً library تحمل الجينوم أو الكروموزوم فى صورة مولَجات inserts صغيرة مُكَلْوَنة

[يستعمل لهذا الغرض بلازميد معروفٌ تتابعه (يبلغ طوله نحو ٤٠٠٠ زق) يحمل بين ما يحمل جينين لمقاومة نوعين من المضادات الحيوية (التتراسيكلين tetracycline والأمبسلين ampicillin) ، وبه موقع تحديد واحد لأحد إنزيمات البتر يوجد فقط داخل تتابع أحد الجينين ــ بذلك يمكننا عزل البكتيرات التى لم تُصب بلازميداً (يقتلها كلا المضادين الحيويين) ، وتلك التى أصابت بلازميداً غير مطعم يحمل جينى المقاومة (لايقتلها كلا المضادين) ، أما عينة البكتريا التى استوعبت بلازميداً واحداً يحمل المولَجَة (التى تمزق جين المضاد الحيوى الحامل لموقع تعرُّف إنزيم التحديد) فيقتلها هذا المضاد الحيوى ، ولكنها تحيا فى المستنبت الذى يحمل المضاد الآخر .]

فإذا أردنا أن نصل فى هذه المكتبة إلى مولجة insert معينة تحمل جينا ما نعرف تتابع القواعد فيه ، أخذنا عينة من كل من المستعمرات البكتيرية (عادة على قرص من النيتروسليولوز nitrocellulose يوضع فوق سطح الأجار بطبق بترى الذى يحمل عادة عدداً من المستعمرات ، لِيَنْقِلَ القرصُ عيناتٍ من كل منها فى نفس مواقعها بالطبق . تعامل العينات بحيث تُفَك جديلتا اللولب المزدوج بالمولَجات ، ليضاف محلول يحمل جدائل دنا

مفردة مُعَلَّمه tagged بذرات مشعة ، ومكملة لإحدى جديلتى الجين . تسمى هذه الجدائل المشعة باسم المسبر أو المجس probe . ومن الممكن بعدئذ تحديد المستعمرة التى تحمل التتابع المكمّل ، وبها الجين بالطبع ، بوجود بقعة مشعة فى مكانها على قرص النيتروسليولوز .

الدنـــا المكمـل (دنا ـ م)
complementary DNA (cDNA)

نعرف أن عـدداً محـدوداً فقط من الجينـات يعمل فـى كل نـوع من الخلايا بجسم الكائنات متعددة الخلايا من حقيقيات النواة ، كما نعلم أن جينـات حقيقيات النواة عادة ما تكون جينـات مفروقـة split genes ، تحمـل مـا بين الإكسونات المشفِّرة ، إنترونات من اللغو الدناوى . مـن المفيد إذن أن نُكلّون الرنا المرسال (المُشذّب) فى أنواع الخلايا المختلفة ، فهو أقصـر كثيراً من الجينات المفروقة على الكروموزومات ، وهو الدليل إلى الجينات العاملـة فـى الخلايا . غير أن كلونة الرنا أمر غاية فى الصعوبة .

لكنا نسـتطيع بإنزيمـات النسـخ العكسـى reverse transcriptases أن ننتج لجديلة الرنا المرسال جديلة من الدنـا المكمـل (دنـا ـــ م) ، مسـتخدمين جدائل الرنا ـ م (المفردة) كقالب ، أى أن نستعيد تركيب تتابع الدنا بالنواة ، الذى نُقِـل عنـه الرنـا ، وذلك بعد إزالـة الإنترونـات منـه . ومـن الممكـن أن تستخدم جديلة دنا ـــ م هذه كقالب يعمل عليه إنزيم بوليميريز الدنا فى تجميـع الجديلة المكملة للولب الدنا المزدوج . وهنا يمكـن أن يُكلّون لولـب الدنـا ـــ م المزدوج هذا مثلما يُكلّون غيره من الدنا ، فى البكتريا مثلاً أو الفيروس .

ولتوضيح الأمر دعنا نأخذ كودونا على كروموزوم وليكن :

٥َ ـ س أ ج ـــ ٣َ

٣َ ـ ج ث س ـــ ٥َ

ولنفترض أن الجديلة العليا هى التى ستُنْسَخ إلى رنا مرسال . ستكون جديلة رنا ـ م الخارجة من النواة هى ٥َ ـ ج ى س (اليوراسيل فى الرنا يكمل الأدنين) . من هذه يُنْسخُ كودون دنا مكمل سيكون ٥َ ـ س أ ج ، يستعمل هذا قالباً لإنتاج الكودون المكمل لكودون الدنا ـ م فى اللولب المزدوج : ج ث س . عدنا فى الواقع إلى كودون الدنا على الكروموزوم الأصلى .

ربما اتضحت أهمية الدنا المكمل هذا إذا تأملنا عملية نود فيها أن ننقل جينا بشريا مثلا إلى بكتيرة بهدف أن يعمل بها وينتج بروتينا بشريا مطلوباً . ما الداعى إلى نقل الجين البشرى بأكمله بما يحمله من إنترونات قد تستغرق معظم طوله ولا تشفر شيء ؟ ثم إن البكتيرة فى الأصل من بدائيات النواة ، وهذه لا تستطيع أصلاً أن تجرى عملية التشذيب فى الرنا النووى لتزيل منه الإنترونات . من الضرورى إذن أن ننقل الدنا المكمل وحده إذا كان للجين أن يعمل بالبكتيرة .

والواقع أننا نستطيع أن نكون مكتبة من الدنا ـ م (عن الرنا ـ م) نحفظ فيها الجينات العاملة فى مختلف أنواع الخلايا من حقيقيات النواة ـ فمعظم الدنا فى هذه الكائنات هو فى الحقيقة ـ كما ذكرنا ـ من سَقَط الدنا ولايشفر شيء ، على أننا لابد أن نتذكر أن لكل جين عوامل تنظيمية (تمتد عادة نحو ٥٠٠ ـ ٥٠٠٠ زق من حدوده) ، وطبيعى ألاَّ يُعَبَّر عن هذه العوامل فى الرنا المرسال ، ويلزم ان تُلْحَق بالجين المركَّب من الدنا المتممِ العواملُ التنظيمية اللازمة كى يعمل .

(٣)

البيوتكنولوجيا فى الطب

العــلاج بالجينـــات
gene therapy

هناك إنزيم إسمه أدينوزين دى أمينيز (أدا) adenosine deaminase (ADA) يشفِّر له جين يقع على الكروموزوم رقم ٢٠ من الطاقم الوراثى ، أى الجينوم ، البشرى ، ونقص هـذا الإنزيـم (الـذى ينتـج عـن خطـأ فـى كـودون واحد بالجين يجعله متنحياً أمام الجين الطبيعى) يسبب مرضاً ، إذ يفقد الجسم مناعته ضد الميكروبات جميعاً (الفيروسات والبكتريا والبروتوزوا والفطر) . الانفلونزا تصبح كارثة . الزكام المصحوب بالرشح ينقلب بسهولة إلى التهـاب رئوى . الجديرى قد يقتل . يصبح الشخص المريض أكثر عرضة للسرطان ، لاسيما اللوكيميا leukemia (سرطان الدم) ـ فاحتمال الإصابة به يبلـغ نحـو عشـرة آلاف ضعـف احتمـال إصابـة الفـرد العـادى . المُبْتَلون بهـذا المـرض الوراثى يعيشون حياتهم القصيرة بعيداً عن الناس . المرض يقتل بكفاءة خلال الأشهر الأولى من الحياة . كان المريض الذى عاش أطول فـترة طفـلاً عـاش اثنى عشر عاماً فى " فقاعة " معقمة لا يتصل بأحد ولا حتـى والديـه ، ومـات فى هيوستون عام ١٩٨٤ بعد عملية نقل نخاع عظم فى محاولة لعلاجه .

ومرض نقص أدا مرض وراثـى نـادر ، يولـد بـه طفـل مـن بيـن كـل ١٥٠٠٠٠ وليـد . وهنـاك الآن مـن العلمـاء الذيـن يدرسـونه عـدد يفـوق عـدد المرضى به .

ولقد أجريت أول " عملية " للعلاج بالجينات لطفلة عمرها خمس سنوات تحمل هذا المرض إسمها أشانتى ديسلفا Ashanthi DeSilva ، كان ذلك يوم الجمعة ١٤ سبتمبر سنة ١٩٩٠ . يوم لاينسى فى تاريخ الطب . أجرى العملية فريق من العلماء : يرأسه وليم فرينش آندرسون W.French Anderson ، ومعه ميكائيل بليز R. Michael Blaese وكينيث كالفر Kenneth W.Culver .

ومهمة إنزيم أدا فى الجسم هى التخلص من مركب ديوكسى أدينوزين deoxyadenisine السام الذى ينتج عن الأيض metabolism فى الجسم ، والذى يرتبط إذا ما ازداد بالفسفور فى الجسم مكوناً " ديوكسى أدينوزين ترايفوسفات " deoxyadenosine triphosphate ــ وهذا مركب يقتل خلايا المناعة ، لاسيما خلايا " ت " T cells . إنزيم أدا يحول هذا المركب الأخير إلى مادة غير مؤذية هى الإينوزين inosine . وغياب أدا يغرق الجسم فى فيض من الديوكسى أدينوزين ، وينتهى بالقضاء على مقاومة الجسم لأى ميكروب يغزوه . مرض نقص أدا يشبه فى الحقيقة مرض الإيدز AIDS تماماً ، سوى أنه وراثى لايعدى وليس مكتسباً .

تقوم الخلايا الجذعية stem cells فى العظام بتصميم ضربين من خلايا " ت " ، التى تنتقل إلى الغدة التيموسية thymus حيث يتم إنضاجها (ومن الحرف الأول لاسم هذه الغدة أخذت الخلايا اسمها) . وضَرْبا خلايا " ت " ـ ويوجدان طبيعيا بنفس النسبة ـــ هما الخلايا المعاونة helper ووظيفتها أن تنبه جهاز المناعة بالجسم (ومنه خلايا ب B cells المنتجة للأجسام المضادة antibodies ، ومن هذه الأجسام : جلوبيولينات المناعة immunoglobulins التى تقاوم الفيروسات والبكتريا) ، أن تنبهه إلى أن شيئا ما ليس على ما يرام بالجسم ـ أن الجسم قد وقع تحت تهديد كائن مُمْرِض pathogen . يتم التنبيه بأن تفرز خلايا ت المعاونة هذه مواد تسمى

السيتوكينات cytokines ـ من بينها إنترلوكين ـ ٢ (إل - ٢) - interleukin 2 (IL-2) ، وجاما إنترفيرون gamma interferon وعامل نمو وتمايز خلايا ب .

ثم هناك الضرب الثانى من خلايا " ت " : الخلايا القاتلة killer cells ، التى تستجيب لنداء التحذير الصادر عن شقيقاتها من الخلايا المعاونة ، فتنطلق تتعقب المُمْرِضات وتلتهمها . وخلايا " ت " الناضجة تحيا بضعة أشهر ، لكنها تستطيع أن تنقسم لتحمل الخلايا الجديدة ، على أسطحها ، نفسَ " الذاكرة " القديمة لسنين طويلة ، ذاكرة اليقظة للتعامل مع التهديدات التى واجهت الخلايا الأم .

يكفى ١٠٪ من الإنتاج الطبيعى لإنزيم أدا لعلاج ضحايا هذا المرض . فهل يمكن أن يُحقن المريض بهذا الإنزيم ، مثلما يُحقن مرضى السكر يومياً بالإنسولين لتعويض عجز الجسم عن إنتاجه ؟ تقول المحاولات مع غير الإنسولين من بروتينات ، فى علاج أمراض وراثية أخرى ، إنها تفشل دائماً ، إذ تتحلل هذه البروتينات بسرعة أثناء دورانها فى الدم بسبب تكون أجسام مضادة لها ، وبسبب البلى . لكنا لا نتوقع إنتاج أجسام مضادة فى دم مرضى نقص أدا ، فجهازهم المناعى يكاد يكون معطلاً . فى أواخر عام ١٩٨٥ ، طلع العلماء بمادة يمكن أن يغلف بها الإنزيم فتحفظه سليماً وهو يدور فى الدم . كانت مادة التغليف هذه هى بولى إيثلين جليكول (بيج) polyethelene glycol (PEG) ـ ومن ثم أُنتج العقار بيج ــ أدا PEG - ADA . وعندما جُرب هذا العقار اتضح أنه لايفيد كثيراً ، فهو يمد عمر النصف half life لهذه الإنزيم إلى أسبوع لا أكثر ، ثم إن أجسام الأطفال المرضى ــ على الرغم من ضعف مناعتها ـ تطور ضده أجساماً مضادة قد تقتل الطفل ـ إذا تغاضينا عن الآلام الرهيبة التى يتعرض لها الطفل عند حقنه مرة كل أسبوع ، وعن تكاليف العلاج السنوية التى قد تصل إلى مائتى ألف دولار .

هنا اتجه التفكير إلى الهندسة الوراثية : إيلاج الجين المشفِّر لأدا فى الخلايا الجذعية لنخاع عظام المريض ، بعد أخذ عينات منه ، ثم إعادة زرعها فيه ، لتقوم الخلايا المطعمةُ بالجين الصحيح بإنتاج إنزيم أدا . لكن لماذا لاتُستخدم كرات الدم البيضاء ؟ تسحب عينة من دم الطفل المريض ، تُكَاثر منها خلايا الدم البيضاء فى مستنبت ، يولج جين أدا الطبيعى فى الكرات البيضاء هذه عن طريق فيروس ارتجاعى طُعِّم بالجين ، تُكَاثر الخلايا المحورة وراثياً بالبلايين ، لتُضَخ ثانية فى دم الطفل ، ربما مرة كل ثلاثة أشهر ، فتقوم بإنتاج الإنزيم فى الدم . نعالج الطفل كذا بالجينات ! علاج يُحقن فيه الطفل على فترات بكرات دمه المحورة وراثياً ، مثلما مرضى السكر يحقنون يوميا بالإنسولين ، ومرضى أنيميا البحر الابيض (الثالاسيميا thalassemia) يحقنون بالديسفيرال Desferal كل ليلة .

كان فريق أندرسون قد تمكن من زراعة خلايا ت فى المستنبت ، وكان قد تمكن بالفعل من تطعيم جين أدا الطبيعى فى المادة الوراثية لفيروس فئران ارتجاعى أزيلت منها الجينات المُمْرِضة ، وكان أن مزج هذا الفيروس بخلايا ت مستزرعة مأخوذة من ثلاثة أطفال مرضى ، فتمكن منها الفيروس ووصل إلى مادتها الوراثية واندمج بها وبه جين أدا . واختُبرت هذه الخلايا المحورة وراثياً فى المعمل . وضعت فى محلول به ديوكسى أدينوزين فَحَوّلته إلى اينوزين . ووُجد أنها تساعد خلايا ب فى إنتاج الأجسام المضادة . كانت الخلايا المطعمة بالجين المشفِّر لأدا تنتج هذا الإنزيم فعلاً ـ فى المعمل ، وكان معظمها من خلايا ت المعاونة .

صُممت التجربة بحيث يدمج الجين المشفِّر لأدا فى خلايا ب المأخوذة من دم أشانتى ، ويضاف إليها إنترلوكين ـ ٢ حتى يزداد تضاعفها ، وتترك هكذا أسبوعاً تُكَثَّر فيه ، ليُعاد حقنها فى دم الطفلة (١٠٠ مليون خلية / كيلوجرام من وزن الجسم) فى جرعات شهرية لمدة ستة أشهر . بعد هذه المرحلة الأولى تبدأ المرحلة الثانية ، التى تستمر ٩ ـ ١٢ شهراً ، يؤخذ فيها

من الطفلة كل شهر عينة دم وتتلقى جرعة من " الجينات " إنما بتركيز يـتزايد حتى يصل فى نهاية المرحلة إلى ١ ـ ٣ بليون خلية / كجم من وزن الجسم ، ليستمر هكذا ، ربما لتزيد الفترة بين الجرعات إلى بضعة أشهر ، ولقد تظهـر الخلايا ذات " الذاكرة " وتتزايد حتى " تشفى " الطفلة .

وفى الساعة الثانية عشرة واثنين وخمسين دقيقة ظهر يوم ١٤ سبتمبر ١٩٩٠ ـ ولفترة امتدت ٢٨ دقيقة ـ كانت تنساب إلـى عـروق الطفلـة أشـانتى بليون خلية مـن خلايـا دمهـا بعد أن حُوِّرت وراثيـاً لتحمـل الجيـن الطبيعـى المشفِّر لإنزيم أدا .

وفى يوم ٣١ يناير من العام التالى (١٩٩١) قام نفس فريق العلمـاء بإجراء " العملية " لطفلة أخرى اسمها سينثيا كاطشول Cynthia Cutshall .

بعد أكثر من تسعة أشهر من إجراء " العملية " ، كـانت خلايـا ت فـى دم أشانتى تصنع ٢٠ ــ ٢٥٪ مـن الإنتـاج الطبيعـى مـن الإنزيـم أدا ــ أكثر بالفعل من المطلوب لتحقيق مسـتوى معقـول مـن المناعـة . أمـا خلايـا سـينثيا فكانت تصنع أقل من ذلك كثيراً ، وإن كان ما تنتجـه يُضفـى مـن المناعـة مـا يكفى . وضعت الفتاتان بعد ذلك تحت اختبارات لفحص استجابتهما للعديد مـن الأنتيجينات ، واتضـح أن الجسم يستجيب بوضـوح بالغ للعديد الذى جُـرِّب مـن الأنتيجينات بإنتاج الأجسام المضادة . ثمة دليل ملموس يشير إلى نجاح العلاج بالجينات ـ ذاك هو أن يكبر حجم اللوزتين tonsils ، فهمـا تشـكلان معسـكراً مركزياً للمناعة . ولقد بدأ بالفعل جسم كل من الطفلتين ينمى اللوزتيـن بشـكل واضح . أصبحت الطفلتان تمارسان الحياة الطبيعية لمن هم فى مثل عمرهما. نجح العلاج بالجينات .

ومنذ ذلك التاريخ طبقت تكنولوجيا العلاج بالجينات علـى المئـات فـى أمريكا وفى أوروبا بالنسبة للكثير مـن أمـراض الـدم الوراثيـة (ومنهـا نحـو

٣٠٠ مرض يمكن نظرياً علاجها بالجينات) ، وبدأ التجريب **لإيلاج الجينات** المطلوبة فى الخلايا الجذعية . ثم بدأ التحرك نحو علاج **أمراض أخرى** وراثية بالجينات ـ غير الأمراض التى تتطلب استخدام خلايا الدم : **استخدمت** الجينات على خلايا الجلد والكبد والرئة والكلى والمعدة والعين ، **بل وحتى** المخ .

من الطبيعى أن يتجه العلاج بالجينات نحو الأمراض **الوراثية التى** تنتج عن عيب فى جين واحد ، يؤثر فى نمط واحد من الخلايا **يمكن الوصول** إليه لإزالته أو تبديله ، والأفضل بالطبع أن يكون الجين المسبب **للمرض قد** حُددت هُويته وكُلّوِن . ولعل أشهر الأمراض الوراثية **المرشحة للعلاج** بالجينات الآن هى : أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anemia ، **والثالاسيميا** بأنواعها (والجين المسئول فى الحالتين يقع على الكروموزوم **١١) والتليف** الكيسى (الكروموزوم ٧) ، ومرض هنتنجتون (الكروموزوم **٤) ، وحثل** دوتشين العضلى (كروموزوم الجنس س x) ، والبول **الفينايل كيتونى** (الكروموزوم ١٢) ، متلازمة ليش نيهان (كروموزوم **س) ، مرض** جوشر (الكروموزوم ١) ، مرض تاى ساكس (الكروموزوم **١٥) ،** مرض نقص أدا (الكروموزوم ٢٠) ، فرط الكولسترول **العائلى (** الكروموزوم ١٩)

الكروموزوم البشرى الاصطناعى
artificial human chromosome

هناك بالكروموزومات ثلاثة ضروب من الدنا : **الدنا الذى يشفر** للمعلومات الوراثية (ويشكل معظم جسم الدنا الكروموزومى **) ، ودنا** التيلومير telomere (فكل كروموزوم يحدُه فى كلٍّ من **طرفيه تيلومير أو** قلنسوة تتألف من تتابعات دناوية مكررة آلاف المرات ، **مهمتها الحد من تآكل** الدنا المشفِّر ، ومنع الكروموزومات داخل النواة من الالتحام **ببعضها بعضا)** ، ثم دنا السنترومير centromere (الموجود عادة **فى وسط الكروموزوم ،**

والذى يرتبط بالمغزل spindle أثناء انقسام الخلية فيمكِّن نسخة الكروموزوم الجديدة من الانفصال عن الأصل) ، ويتألف هو الآخر من مكررات من تتابع دناوى قصير) .

تمكنت مجموعة من العلماء الأمريكيين ، عام ١٩٩٧ ، من تخليق كروموزوم بشرى اصطناعى ـ بأن أخذوا بعضا من دنا كرات دم بشرى بيضاء ، ثم قاموا بتصنيع تيلوميريْن بربط آلاف من وحداتٍ دناوية مُخَلَّقة آليا ، كما صنَّعوا أيضا بنفس الطريقة سنتروميرا . غلفوا هذه المكونات الثلاثة بالليبيدات حتى يمكن تمريرها من غشاء الخلية ، ثم أولوجوها فى خلية سرطانية بشرية مرباة فى مستنبت ، فإذا بالخلية تقوم أوتوماتيكيا بتجميع هذه المكونات فى صورة كروموزوم اصطناعى ، ثم وجدوا أن هذا الكروموزوم الاصطناعى يورِّث ، عند انقسام الخلية ، الى الخلايا الجديدة ، تماماً مثل غيره من كروموزومات الخلية .

كان الكروموزوم الاصطناعى يورث ، وكان فعالاً .

يعتبر الكروموزوم البشرى الاصطناعى نقطة تحول فى علم وراثة الإنسان ، وسيفتح الباب واسعاً أمام علاج البشر بالجينات ، ففيه يمكن أن يُنقل الجين الذى يحتاجه المريض إلى خلايا دمه ، دون اللجوء إلى الفيروسات التى قد تولج مادتها الوراثية فى غير المكان الصحيح بكروموزومات خلايا الدم .

السوماتوستاتين
somatostatin

هذا الهرمون بروتين صغير (ببتيد) طوله ١٤ حمضاً أمينياً لا أكثر ، تصنعه غدة الهيبوثالامص hypothalamus ، ومهمته تثبيط إنتاج هرمون النمو من الفص الأمامى للغدة النخامية pituitary . كان هذا الهرمون هو أول

هرمون بشرى تنتجه بكتريا إ . كـولاى . حدث هذا عام ١٩٧٧ . فى ذلك الوقت كان على العلماء الثلاثة الذين قاموا بهذا العمل (إيتاكيورا K. Itakura وبوليفار F.Bolivar وهربرت بوير H. Boyer أن يخلِّقوا الجين المشفِّر لهذا الهرمون من ٤٢ نوتيدة (١٤ × ٣) (بجانب عشر نوتيدات أخرى تحمل إشارات العمل) ، ولم يكن هذا بالأمر اليسير فى ذلك الجين . ثم إنهم أولجوا الجين فى بلازميد ليدخل جسم البكتيرة .

إذا لم نوفر لبكتريا إ . كولاى فى بيئتها سوى سكر اللاكتوز lactose ، نبه ذلك جيناً بها يختص بإنتاج إنزيم بيتاجالاكتوسيديز beta galactocidase الذى يحلل اللاكتوز إلى جالاكتوز وجلوكوز (والأخير هو السكر الذى تعشقه إ.كولاى) . والمنطقة من دنا البكتيرة القادرة على الإحساس باللاكتوز وعلى توجيه إنتاج الإنزيم المُحَلِل تسمى أوبيرون لاك lac operon . نُقِل إذن هذا الأوبيرون ومعه الجين المسئول عن إنتاج إنزيم بيتاجالاكتوسيديز ملاصقاً للجين المصنِّع لهرمون السوماتوستاتين على بلازميدة (اسمها pBR322) أولجت فى البكتريا . عندما غذيت البكتريا على اللاكتوز وحده عمل الأوبيرون فبدأ الجين المشفر للإنزيم يعمل ، وعمل معه أيضا جين الهرمون ، ليُنتج الكثير من هذا البروتين . لكن كان من الضرورى " لحصد المحصول " من داخل البكتريا أن يتم فصل الإنزيم عن الهرمون ، كما كان من اللازم التغلب على اتجاه البكتريا إلى تحليل قدر كبير مما تنتجه من هذا الببتيد الغريب عليها إلى مكوناته من الأحماض الأمينية .

أمكن التغلب على هاتين المشكلتين بربط جين السوماتوستاتين بنهاية أحد جينات البكتيرة (جين زد z) بحيث يُقرأ تتابعه على أنه جزء من جين z . تنتج البكتيرة إذن بروتيناً طويلاً ، هو نتاج شفرة جينين معاً ، ثم إنها تفرزه خارجها ، حيث يمكن فصل السوماتوستاتين كيماوياً وجمعه ، دون الحاجة إلى تحطيم البكتيرة ـ ليتضح أن السوماتوستاتين الذى صنعته البكتريا مطابق تماماً للهرمون الذى ينتجه الجسم البشرى . كانت هذه أول مرة يُصنَّع فيها جين آدمى وأول مرة تنتج فيها بكتريا بروتينات آدمية .

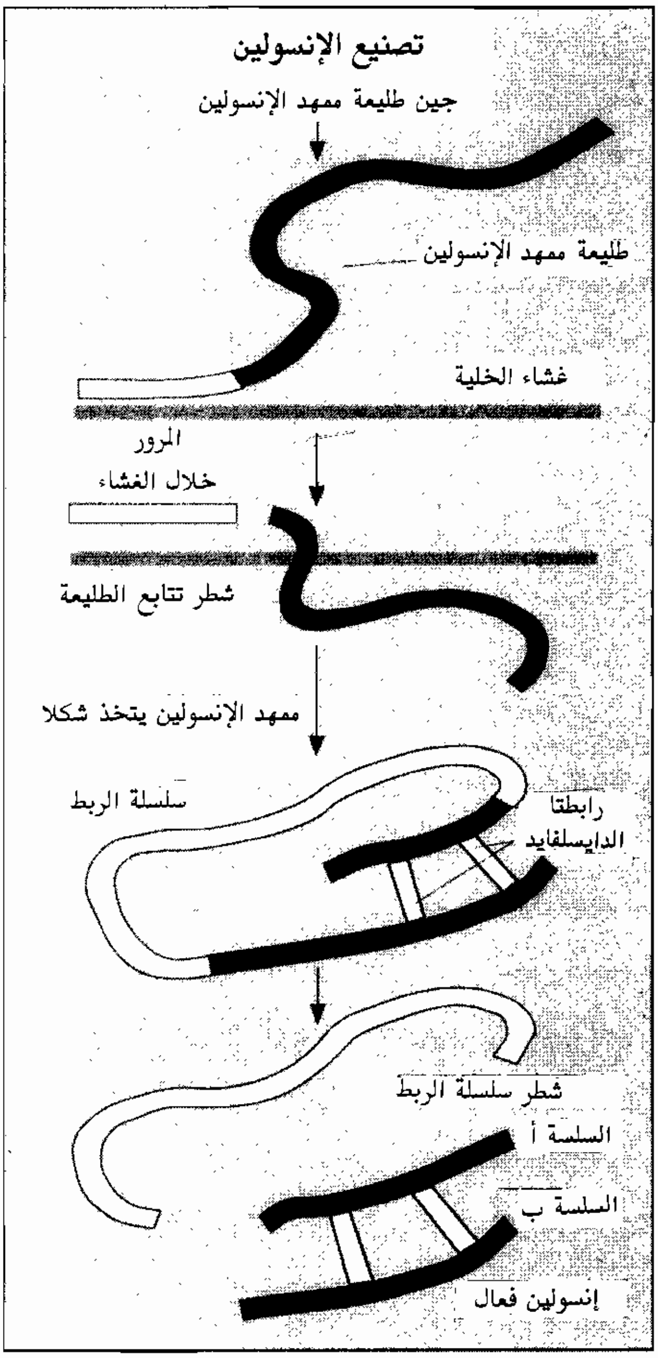
الإنســـوليـــن
insulin

الإنسولين البشرى من أثمن البروتينات العلاجية . هو هرمون تفرزه خلايا بيتا فى جزر لانجرهانس islets of Langerhans بالبنكرياس وظيفته التحكم فى مستوى السكر فى الدم ، وقد اكتشفه عام ١٩٢٣ عالمان (بانتنج وبست F.G. Banting & C.H. Best) إذ وجدا أن مرض السكر diabetes يرجع إلى عجز فى إنتاج الجسم للإنسولين . ولقد مكّنت حقَن الإنسولين اليومية الملايين من حياة تكاد تكون طبيعية . استُخدمت غدد البنكرياس من الماشية والخنازير ـ التى تجمع من المجازر ـ فى توفير الإنسولين للبشر . وإنسولين الماشية يشبه كثيراً الإنسولين البشرى ، لكنه لا يطابقه ، فهناك اختلاف فى ثلاثة أحماض أمينية بينهما (اثنين فى السلسلة أ وواحد فى السلسلة ب) . وهناك من المرضى من يكشف جهازهم المناعى هذا الفارق الطفيف ، فتصنع أجسادهم أجساماً مضادة له antibodies . فى هؤلاء ، قد تعادل الأجسام المضادة فِعْلَ الإنسولين ، ومن ثم يحتاجون إلى جرعات من الإنسولين أعلى ، ثم إنه قد يسبب التهابا كريها وورماً مؤلماً فى موضع الحقْن الذى يتكرر يومياً .

فإذا تذكرنا أن تعداد من يصابون بهذا المرض فى تزايد ، بسبب ضغوط الحياة وتغير العادات الغذائية والانفجار السكانى ، أدركنا ضرورة إيجاد مخرج . من الممكن أن يجرى تصنيع هرمون الإنسولين كيمياوياً ، لكن سعره سيكون مستحيلاً . ومن الممكن أن نغير ـ بالتمثيل البيولوجى biosynthesis ـ أحدَ الأحماض الأمينية فى إنسولين الخنزير لننتج إنزيماً لا يسبب إزعاجاً كثيراً ، لكن مثل هذا الإنزيم سيحمل كميات من شوائب من بنكرياس الخنزير . ولقد فتحت تكنولوجيا الدنا المطعم الطريق لحل المشكلة .

نبدأ الخلية البشرية فى خلايا البنكرياس صناعة الإنزيم بإنتاج مايسمى طليعة مُمهِّد الإنسولين preproinsulin ، وهذا شريط بروتينى طويل له ذيل

يمكّن هذا الجزىء من المـرور عبر الغشـاء الخلـوى ، ثـم ينفصـل ، ليتحـول الجزىء إلى ممهـد الإنسـولين proinsulin . يحمـل هـذا الجـزىء ٨٤ حمضـاً أمينيـاً ، تقـوم إنزيمـات فـى البنكريـاس ببتـر ٣٣ حمضـا منهـا ليتبقـى جـزىء الإنسولين البشرى العامل ــ فى صورة سلسلتين : السلسـلة أ مـن ٢١ حمضـا أمينيـا ، والسلسـلة ب مـن ٣٠ حمضـا ، تربطهمـا رابطتــان مـن الدايسـلفايد disulfide bridges . يصعب حقاً أن نتخيل أن تتمكن خلية البكتريا مـن إنتـاج وتحوير جزىء طليعة ممهد الإنسولين ، لتعالجه حتى تعطــى الإنسـولين ، إذا ما أولجنا بها الجين المشفِّر : فليس لديها مؤكدا الآليـة اللازمـة لذلـك . لكـن العلمـاء خلّقـوا جـزىء دنـا يشفِّر لسلسـلتى أ ، ب يربطهمـا كـودون أ ث ج (المشفر لحمض الميثيونين) ويتصل بهمـا جيـن بكتـيرى أيضـاً عـن طريـق كودون أ ث ج . أولج هذا الجين التركيبى المكـبر فـى بلازميـد ، وأُدخـل فـى البكتريـا ، لتنتـج بروتينـاً مختلطـاً يتـألف مـن سلسـلتى الإنسـولين متصلتيـن ومتصـلاً بهما البروتين الذى يشفِّر له جين البكتريا ــ وموقعا الاتصال يحملان حمض الميثيونين . سلسـلتا الإنسـولين لا تحمـلان أصـلاً هـذا الحمـض . هنـا يضـاف بروميـد السـيانوجين cyanogen bromide الـذى يحطـم الميثيونيـن ، فينقسم جزىء البروتين الطويل إلى قِطَعِه الثلاث ، لتوصل سلسـلتا الإنسـولين بعد ذلك فى تفاعل يكوِّن قنطرتى الدايسلفايد بينهما . يمكن للبكتريا إذا أُحسِنت هندستها أن تنتج من الإنسولين البشرى مـا تتـورم منـه . يُسـوَّق الآن ، ومنـذ عـام ١٩٨٢ ، الإنسـولين البشـرى النـاتج عـن البكتريـا (تحـت اسـم هوميليـن humulin) ، وقد أوضح استعماله أنه بالفعل مأمون وفعَّال .



الشكل رقم (١٦)

ينتج الانسولين المُهَنْدس وراثياً بأن نبدأ من تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلتى الإنسولين ، ومنها نعرف تتابع القواعد فى جين كل سلسلة فنُركِبُه بالماكينة ، وندفع بالسلسلتين إلى البكتيريا

هرمون النمو البشرى
human growth hormone

وهرمون النمو البشرى ، أو السوماتوتروبين البشرى somatotropin ، جزىء آخر من الجزيئات العلاجية الثمينة . هذا هرمون تفرزه الغدة النخامية ، يبلغ طوله ١٩١ حمضاً أمينيا (أى نحو أربعة عشر ضعف طول بروتين السوماتوستاتين البشرى) ، ويقوم بحفز نمو الخلايا والأنسجة . تؤدى زيادة افرازه فى الجسم إلى العَمْلَقَة gigantism ، مع تضخم ملحوظ فى اليدين والقدمين والذقن ، ومتاعب فى العظام والمفاصل عند الكِبَر . فإذا لم تنتج النخامية منه مايكفى – لسبب وراثى أو مرضى – تحول الفرد إلى قزم . ولم يكن ثمة علاج للأطفال المصابين بالقزمية dwarfism الوراثية (وهناك طفل بين كل ٥٠٠٠ وليد يعانى من نقص هذا الهرمون) إلا الحقْن المنتظم بهذا الهرمون ، الذى كان يُستخلَص من الغدد النخامية للموتى بالمستشفيات عن طريق تقنية كيماوية مجهدة . كان هذا العلاج يكلف كثيراً ، إذ يحتاج الطفل فى العام غددَ نحو سبعين جثة . وفى أوائل الثمانينات كشف عن إصابة ثلاثة – كانوا قد عولجوا بالهرمون المستخلص من جثث الموتى – بمرض كرويتسفلد جاكوب Kreutzfeld - Jacob (الذى يصيب المخ ويشبه كثيراً مرض جنون البقر) ، نُقِل إليهم فيروسه البطىء slow virus من نخامية مريض مات بهذا المرض – لتظهر الأعراض بعد نحو ثلاثين عاماً . وهنا خُطِر استخلاص الهرمون من الجثث .

تم إيلاج الجين البشرى المسئول عن هذا الهرمون فى بكتريا إ.كولاى عام ١٩٧٩ ، لتُنتج هى منه نوعيَّة تفضل المستخلصة من الجثث كثيراً . تُنتج هذا الهرمون الآن من البكتريا ثلاث شركات على الأقل ليستخدم فى علاج القزمية وفى الإسراع من التئام الجروح والكسور والحروق . ولقد يستعمل أيضاً فى " التخسيس " ، بالنظر إلى ماله من قدرة على تشجيع تكوين العضلات لا الدهون (يستخدمه بعض الرياضيين لزيادة حجم عضلاتهم) – وهذا مجال خَطِر – ستكون له بالتأكيد سوق واسعة – لكنه يتطلب التمهل والحذر .

فى بداية الأمر ، لوحظ أن للهرمون الذى تنتجه البكتريا آثاراً جانبية ، اتضح أنها ترجع إلى تلوثه بمركب كيماوى من جدر خلايا البكتريا ، سامٍ إذا وصل دم الإنسان . يظهر هذا المركب فى الهرمون لأن البكتريا تنتجه داخل خلاياها ، ويلزم تحطيمها لاستخلاصه . أمكن التغلب على المشكلة ، لتؤكد ضرورة أن يولى المهندس الوراثى اهتمامه إلى ما تنتجه البكتريا من بروتينات بشرية .

الإنترفيرون
interferon

لاحظ أليك إيزاكس Alick Isaacs أن نمو فيروس داخل الخلايا يمنع نمو فيروس آخر فيها . اكتشف عام ١٩٥٧ هو والسويسرى جين ليندمان Jean Lindemann أن الخلايا المصابة بالفيروس الأول تفرز مادة مضادة (إنترفيرون) توقف نمو الفيروس الثانى يمكن العثور عليها فى السوائل حول النسيج وفى الدم . بسرعة اعتُبر الإنترفيونُ النظيرَ للمضادات الحيوية antibiotics للبكتريا ــ فهذه تقتل البكتريا ولكنها لا تؤذى الفيروسات .

غدا الإنترفيرون إذن من البيولوجيكيات biologicals المحتملة ، حتى بعد أن اتضح أنه نوعىّ تماما : فإنترفيرون الفأر مثلاً لايصلح إلا للفأر ولايحمى الإنسان ــ ومعنى هذا أننا لانستطيع استخدام الحيوان فى إنتاج إنترفيرون يصلح للبشر ، إنما يلزم أن نستخلصه من خلايا بشرية تنمى فى مستنبت فى المعمل ــ وحتى هنا سيكون القدر الذى تنتجه الخلايا البشرية ، كما اتضح ، ضئيلاً جداً ، الأمر الذى يزيد من مجهود إنتاجه كعلاج ويرفع ثمنه . (يمكن من ٤٥ ألف لتر من الدم استخلاص عُشْر جرام من الإنترفيرون النقى لا أكثر) . لكن الاهتمام بالإنترفيرون ظل يزداد بعد أن اكتُشف أنه يحث الخلايا المصابة بالفيروسات على تمثيل جزيئات تقاومها ، وينبه الجهاز المناعى لإنتاج خلايا " ت " ، مثلما ينبهه إلى مقاومة بعض

النموات السرطانية . غير أن الإنترفيرون ظل بعيداً عن حقل التجريب الواسع ، لقلة المتوفر منه وارتفاع سعره وانخفاض نقاوته .

وفى عام ١٩٨٠ تمكنت ثلاث مجموعات من العلماء (كل على حدة) من انتاجه نقيا بتكنولوجيا الدنا المطعَّم . ظهر فى البداية أن منه ثلاثة ضروب (ألفا وبيتا وجاما) (تقوم كرات الدم بتخليق ألفا ، والأرومة الليفية بتخليق بيتا وخلايا " ت " بتخليق جاما) . ـ لكن عدد الضروب قد تعدى الآن عشرة ، بينها اختلافات ضئيلة فى مقاومة الفيروسات وفى تنبيه الجهاز المناعى . كما ظهر أنه ليس فى الحق بالدواء السحرى الذى كان متوقعاً ، لكنه يفيد فى اندمال الجروح والتئام كسور العظام وعلاج الحروق والتقرحات ، كما يدخل الآن فى علاج بعض أنواع السرطانات (منها ساركوما كابوسى Kaposis's sarcoma ، وبعض سرطانات الكُلية ، والميلانوما ، ولوكيميا النخاع الشوكى المزمنة) ، وأمراض المناعة الذاتية ، وثآليل الأمراض التناسلية ، وإن كانت له ـ بالجرعات الكبيرة ـ آثار جانبية بغيضة .

البلازمينوجين
plasminogen

مرض القلب هو القاتل الأول فى مجتمعات الغرب اليوم ـ واحد من بين كل اثنين هناك يموت بسبب مضاعفات هذا المرض ، وتتزايد ضحاياه الآن فى العالم الثالث . ينشأ تصلب الشرايين عن الترسيب المستمر للكولسترول cholestrol على جدر الشرايين ، لاسيما منها المتوسطة والكبيرة الحجم ، ومن هنا خطورته .

والكولسترول مادة حيوية ضرورية جداً للحياة ، يصنع الكبد منها ٧٥٪ ويأتى الباقى من الغذاء ، عادة من الدهون الحيوانية ، إذ تخلو منه المنتجات النباتية تماماً . من هذه المادة تصنع خلايا الجسم أغشيتها ، وتصنع

الغدة الكُظْرِية adrenal والأعضاء الجنسية هرمونات غاية فـى الأهميـة ، ثـم إنها مكوِّن رئيسى فى تشكيل أملاح الصفراء وفيتامين د . يجرى الكولسترول فى الدم ليصل إلى الخلايا التى تستخدمه وتطلقه إلى الدم ثانية بعـد الاستخدام ليعود إلى الكبد ، فيتخلص منـه أو يعيد تدويره . ولما كان الكولسترول لا يذوب فى الماء ، فإنه لايمر من أغشية الخلايا إليها إلا عندما تسمح لـه بذلك سلسلة من المستقبِلات receptors . فإذا حدث وترسب الكولسترول فى موقـع بشريان ، ولم يستطع تيار الدم أن يغسله ، ولم يجد الجسم من المذيبات القدر الذى يحلله ، بقى فى مكانه مكونا لطخة ، تتزايد مـع الوقت حتـى ليغدو من الصعب إزالتها ، بينما هى تسد مجرى الدم فى الوعاء رويداً رويداً . فـإذا ما وقع ذلك فى شـبكة الشرايين التاجيـة التـى تغذى القلب ، قلَّ ما يصل إلـى عضلة القلب من الأكسجين ـ عادة دون أن يشعر الفرد . قد يبدأ مثل هذا الترسيب الغادر البطىء من الطفولـة ، لكن أعراضها لاتظهر عـادة إلا فـى أواسط العمر ـ والرجال أكثر تعرضاً له من النساء . يحدث أن تتكون أحيانـاً جلطة دموية فى مكان اللطخة بالشبكة التاجية فتـؤدى إلـى شبه انسداد . هنـا يحس المريض بآلام هائلة فى الصدر تعلن عن نوبة قلبية . وإذا ما حدث ذلك فى الشرايين السباتية carotid arteries وقعت السكتة الدماغية stroke . فـإذا لم يمكن إعادة تيار الدم إلى العضلـة ، ماتت ، ليحل محلها ـ إذا لم يتـوفَّ المريض ـ نسيجاً ليفياً لايمكن أن ينقبض كعضلة القلـب السليمة ، ولـذا يظل القلب طول حياة المريض يضخ الدم بصورة عاجزة .

هناك إذن علاقة وثيقة جداً بين مرض القلب وبين كولسترول الدم ـ وبينه وبين الدهون المشبعة . ولما كان الكولسترول لايذوب فـى المـاء ، فقد جهز لـه الجسم أسطولاً مـن نـاقلات تسمى الليبوبروتينـات lipoproteins ، يمكنها أن تسبح بحُرِّيَّة فى بلازما الدم وهـى تحملـه ـ كمـا تقوم أيضـاً بنقل الدهون التى نأكلها من الأمعـاء إلـى الكبد . هنـاك مـن الليبوبروتينـات أربـع صور ، كلّ منها يعبر عن مرحلة فى تحولها ، ولكل منها دوره . فأما الأولى

فهى الليبوبروتين ذو الكفاءة المنخفضة جداً very low density lipoprotein (VLDL) ، وهذه تحتوى بجانب الكولسترول على ترايجلسريدات triglycerides ـ أكثر أنواع الدهون المشبعة وجوداً فى غذائنا . يخرج هذا الليبوبروتين إذن من الكبد محملاً بالكولسترول والترايجلسريدات ، ليترك حمولة من هذه الأخيرة فى محطات على طول الطريق حيث يحرق لإنتاج الطاقة أو يخزن كدهون . عندما تقل الحمولة من الجلسريدات تقل كثافة الليبوبروتينات وتصبح متوسطة intermediate ـ الصورة الثانية ـ ليعود البعض منها إلى الكبد للاستيعاب ، وتبقى فى تيار الدم الصورة الثالثة : الليبوبروتين منخفض الكثافة low density (L D L) ـ وهذه هى الصورة التى تنقل الكولسترول إلى خلايا الجسم لتصنع منه أغشيتها أو تركِّب منه هرمونات . ومعظم ما يحمله الجسم من كولسترول (٧٥ ـ ٨٠٪ منه) موجود فى شاحنات الليبوبروتين منخفض الكثافة هذا . والمستوى المرتفع من هذا الليبوبروتين فى الدم هو الذى يرتبط بزيادة الإصابة بتصلب شرايين القلب . [توجد على أسطح الخلايا مستقبِلات تسمح لجزئيات هذا الليبوبروتين بالولوج إلى داخل الخلية . يشفر لهذه المستقبِلات جين ، يقع على الكروموزوم ١٩ . وفساد هذا الجين يسبب " فرط الكولسترول " فى الدم ـ وهذا واحد من أخطر الأمراض الوراثية] . وعندما تتخلص الخلايا من الليبوبروتين بعد استخدامه ، يخرج إلى الدم فى صورة ليبوبروتين عالى الكثافة H D L (الصورة الرابعة) ، حيث يتشرب ما يجده من كولسترول كالاسفنج وينتفخ ، ليمضى فى طريقه إلى الكبد حيث يتحلل أو يعاد تدويره .

يعرف الليبوبروتين منخفض الكثافة بقدرته على ترسيب الكولسترول فى الشرايين ـ ومن ثم يقال إنه " خبيث " ، أما الليبوبروتين عالى الكثافة فهو الصورة " الطيبة " ، لأنه الوسيلة التى يخرج بها الكولسترول من الحلبة . ولقد اتضح بالفعل أنه كلما ازداد الليبوبروتين عالى الكثافة فى الجسم كلما قلت القابلية للإصابة بمرض القلب ـ فارتفاع نسبته تعنى ارتفاع كفاءة

التخلص من الكولسترول . والحق أن هناك من هذا الليبوبروتين عالى الكثافة ثلاثة أشكال (١ ، ٢ ، ٣) ، وزيادة نسبة الشكل الثانى وحده هى التى ترتبط بانخفاض نسبة الإصابة بمرض القلب . (اتضح أن الرياضة البدنية ترفع من نسبة هذا الشكل الثانى بالذات) . ولما كان المكون الأساسى فى الليبوبروتين منخفض الكثافة هو الأبوليبوبروتين ب apolipoprotein B ، بينما يكون فى الليبوبروتين عالى الكثافة هو الأبوليبوبروتين أ ـ ١ ، فقد اتُخِذ هذان أساساً فى التحاليل الاكلينيكية .

ولقد عُزِل جين بشرى يشفر للأبوليبوبروتين أ ـ ١ ، لتُستخدم تكنولوجيا الدنا المطعم فى انتاجه بكميات وفيرة تكفى لاستعماله لمن يتميزون بمستوى منخفض من الليبوبروتين عالى الكثافة ، إذ يقلل من خطر إصابتهم بالنوبات القلبية .

لكن الجسم ينتج طبيعياً بروتيناً ثميناً يقوم بإذابة جلطات الدم إذا وقعت حيثما لايجب ، غير أنه يفرزها بكميات غاية فى الضآلة تكفى فقط لإجراء عملية " التنظيف " الروتينية . لو أمكن تصنيع هذا الجزىء الحيوى بكميات وفيرة لأصبح عقاراً سحرياً غاية فى الأهمية . فالجسم يعرفه . يسمى هذا البروتين " منشط بلازمينوجين الأنسجة " tissue plasminogen activator . ولقد تمكنت إحدى الشركات الكبرى من إنتاج كميات تسويقية منه ، بعد تطعيم الجين المشفِّر فى ناقل أولج إلى خلايا ثدييات مستزرعة (ويُسَوَّقُ تحت اسم أكتيفيز activase) وظهر بالفعل أن حقْن الأكتيفيز فى غضون أربع ساعات من حدوث الأزمة القلبية يذيب الجلطة بسرعة ويعيد لعضلة القلب نصيبها من الدم . لكن سعره كان مرتفعاً للغاية (٢٠٠٠ دولار للجرعة) ، كما اتضح أن نشاطه لايستمر بعد الحقن إلا فترة قصيرة ، فثمة جزىء مثبط له inhibitor يوجد طبيعياً فى الدم ـ مما يفسر المعدل المرتفع من الجلطات بعد استعماله بفترة . هنا قفزت جماعة أخرى من العلماء إلى

العمل ، فصمموا عام ١٩٨٩ جزيئاً جديداً من منشط بلازمينوجين الأنسجة ، حوروا فى الواقع من التركيب الجزيئى لهذا المنشط وأنتجوا جزيئاً جديداً لم يكن له من قبل وجود . كان هذا الجزىء يذيب الجلطات تماماً مثل الأكتيفيز. لكن حساسيته للمثبط الموجود فى الدم أقل كثيراً ، ومن ثم يبقى لفترة أطول .

بدأت البيوتكنولوجيا تنتج عقاراتٍ مبتكرة ، تُهَنْدِس جزيئات بروتينية جديدة تماماً لم يسبق أن وجدت بالطبيعة .

مسابر التشخيص الوراثى
probes

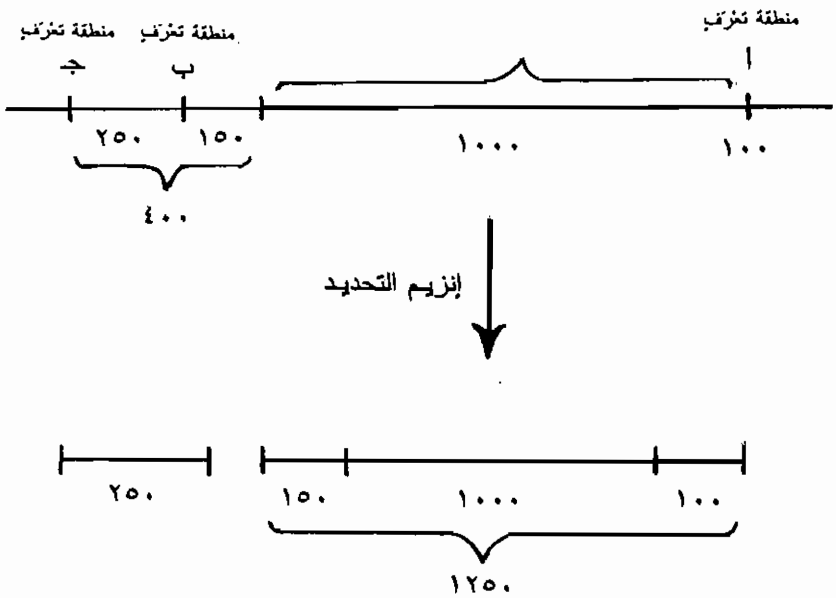
يمكن لتقنيات معالجة الدنا أن تُسهم كثيراً فى تشخيص الأمراض الوراثية فى الإنسان . تنشأ الأمراض الوراثية عن عيوب فى الدنا ، تتابعات دناوية تحولت ـ طفرت ـ فتغير نظامها ولم تعد تنتج البروتين الذى يشفر له الجين الطبيعى ، أو أصبحت تنتجه بكميات أقل فلا توفر المطلوب منها للجسم ، أو غدت تنتج بروتيناً آخر ضاراً . يمكن إذن أن نتجه فى التشخيص إلى تسلسل النوتيدات فى الجين لنرى إن كان قد تغير ـ قياساً إلى نموذج تسلسلٍ طبيعى نعرفه للجين . نلجأ هنا إلى خصيصة التكامل الجزيئى بين القواعد المؤلفة للدنا (أ دائما مع ث ، ج دائما مع س) ـ إلى طريقة تسمى تهجين الحمض النووى . إذ تُحَضَّر سلاسل مفردة (لامزدوجة) تحمل القواعد المكملة للتتابع المطلوب سبره ، ثم أننا نشععها ، لتصبح مسابر مُشعة ، ثم نمزجها بالدنا المطلوب التشخيص فيه ، والمجهَّز أيضاً فى صورة جدائل مفردة . ستهجَّن ـ أى تلتحم ـ جدائل المسبر المشععة فقط ، بالجدائل المكملة لها إن كانت موجودة (ولن تمس غيرها) لتكوّن لوالب مزدوجة هجينة يمكن كشفها بعد التفريد الكهربائى electrophoresis . بل وقد يستعمل تهجين الدنا فى معرفة موقع الجين والكروموزوم الذى يحمله ، فى تقنية تسمى التهجين فى الموقع in situ hybridization . إذ تؤخذ مثلاً دهكة من دنا خلية بشرية ،

ثم تعامل لفصل اللوالب المزدوجة للكروموزومات إلى جدائل مفردة ، لتعالج بالمسبر المشع للجين ، ثم تؤخذ صورة اشعاعية . ستشتبك المسابر المشعة بالجين فى موقعه ، وتظهر فى الصورة بقعة سوداء تحدد مكانه وتحدد الكروموزوم الذى يحمله . وقد نجحت هذه الطريقة عام ١٩٨١ ، بعد تحسينها ، فى تحديد موقع الجين المشفر للإنسولين على طرف الذراع القصير للكروموزوم البشرى رقم ١١ .

إذا كان العطب الوراثى قد نشأ عن طفرة نقطية بجين يحمل فى تتابعه موقع تعَرُّفٍ لأحد إنزيمات التحديد ، كان من السهل التشخيص بالمسابر تشخيصا مباشراً . جين بيتا جلوبين فى الإنسان مثلاً طوله ٣٧٦ زوجاً من القواعد (زق) ، وهو يحمل التتابع ٥َ ــ س . ث ج أ ج الذى يتعرف عليه إنزيم التحديد Dde I . إذا عُرِّض الجين الطبيعى لهذا الإنزيم شَطَرَه إلى مقطعين يختلفان طولاً : واحد طوله ٢٠١ زق والآخر طوله ١٧٥ زق . تُعْطِب هذا الجينَ طفرةٌ نقطية تحول القاعدة أ ، فى تتابع التعرف داخله ، إلى ث ، وتتسبب فى مرض أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anaemia . فإذا استخدمنا مسابر مشعة لجين بيتا الطبيعى ، على عينة من دنا يحمل هذا الجين عُرِّضت لفعل إنزيم التحديد هذا ، ثم قمنا بالتفريد الكهربائى للناتج ، ظهرت لنا لطختان مشعتان قصيرتان متتاليتان . أما عينات الدنا النظيرة المأخوذة من خلايا دم شخص منجلى ، فلن ينشطر تتابع الجين فيها بفعل الإنزيم ــ لأن الإنزيم لن يجد التتابع الذى يعرفه فقد غيرته الطفرة ، وبذا فستظهر عن التفريد الكهربائى لطخة واحدة كبيرة تشمل الجين كله . (وربما كان لنا هنا أن نلاحظ ان تحولاً بسيطاً ــ لايزيد على نوتيدة واحدة ــ كان هو الفرق بين الصحة والمرض) .

والحقيقة أننا نستطيع أن تستخدم الرفليبات هذه فى التشخيص حتى لو لم تقع الطفرة داخل الجين (مثلما كان الوضع فى الأنيميا المنجلية) وإنما فى منطقة متاخمة للجين على الدنا . فنحن نعرف الآن موقع أكثر من ألفى

رفليب منثورة على طول كروموزومات الانسان (والمجهودات جارية لزيادتها) . ولكى تتضح الطريقة دعنا نفترض أن جينا يهمنا (لأن طفوره يسبب مثلاً مرضا وراثياً) يكمن فى منطقة ما على كروموزوم طولها ١٠٠٠ زق . لنفترض الآن أن إلى اليمين على مقربة من هذه المنطقة التى تحمل الجين (الطبيعى) موقعَ تعرّفٍ (أ) لإنزيم تحديد معين يبتره فى منتصفه عند نوتيدة تبعد عن منطقة الجين ١٠٠ زق (مثلاً إنزيم HaeIII الذى يبتر التتابع ٥َ - ج ج . س س مابين ج الثانية و س الأولى) ، وأن إلى يسارها موقعين مماثلين (ب ، ج) على مبعدة ١٥٠ و ٤٠٠ زق على التوالى :



إذا استخدمنا إنزيم التحديد إذن على دنا أفراد طبيعيين (غير مصابين بالمرض) فإنا نتوقع أن ينشطر هذا الامتداد إلى جزءين ، واحدٍ طوله ١٢٥٠ زق [١٠٠٠ زق (منطقة الجين) + ١٠٠ زق + ١٥٠ زق (إلى اليسار)] ، والآخر طوله ٢٥٠ زق (مابين ب ، جـ) . يعرفنا التفريد الكهربائى بهذا إذ تظهر لطختان واضحتان يختلفان حجماً .

افترض الآن أننا عرّضنا دنا أفراد يحملون المرض ، إلى إنزيم التحديد ، فكانت النتيجة لطخة واحدة كبيرة ، قطعة واحدة طولها ١٥٠٠ زق

(١٠٠ + ١٠٠٠ + ١٥٠ + ٢٥٠) . هنا نستطيع القول إن طفرة قد حدثت بموقع التعرف (ب) غيرت من التتابع فيه فلم يستطع إنزيم التحديد التعرف عليه ، ولم يبتره ـ وإنما بَتَر فقط عند الموقعين أ ، جـ . ومعنى هذا أن موقع التعرف ب أقرب إلى الجين المعنى من الرفليب جـ (وأن منطقة الجين تقع ما بين أ ، ب) ـ نعنى أننا نستطيع أن نستخدم الموقع ب كواسم ، " جين طافر " قريب مرتبط بجين المرض .

طبيعى أننا سنبدأ العمل غير عارفين بالمسافات فى الخريطة التى وُضِعت للتوضيح ، وليس لدينا سوى خريطة مواقع التحديد للرفليبات توضح أماكن تعرف إنزيم التحديد الذى سنستخدمه . فإذا لاحظنا أننا إذا عرضنا للإنزيم دنا عدد معقول من المرضى مسحوبٍ من عائلة ممتدة extended family معروفة بالمرض ، وظهرت دائما فى مكان ما عند التفريد الكهربائى لطخة أكبر مما تقول به الخريطة ، عرفنا بوجود طفرة فى دنا المرضى بهذا الموقع الأوسط ، وأن موقع التحديد الطافر يقع بجوار الجين ، ويمكن أن يُستخدم فى تشخيص وجود هذا الجين المرضى أى كدليل على وجوده ــ أى نشخِّص وجود الطفرة الرفليبية دليلاً على وجود الجين المرضى الذى لانعرف تركيبه بالضبط . لكن علينا أن نلاحظ حدود هذا التشخيص : فلقد يحدث تأشيب recombination (فى الخلايا الجنسية لمن يحمل الجين المرضى من الأبوين) ما بين هذا الجين المرضى وبين موقع التعرف الطافر للإنزيم ، فلا يظهران سوياً فى دنا المريض . تتوقف نسبة هذا التأشيب بالطبع على بُعد الجين عن موقع التعرف (فتزداد بزيادته) . ومعنى حدوث التأشيب هو أن يظهر فرد غير مريض يحمل الرفليب الطافر ، أو يظهر مريض لا يحمله .

تتحدد المادة الوراثية للفرد عند إخصاب الحيوان المنوى للبويضة وتكوين الزيجوت . ومن الممكن إذا توفرت المسابر الملائمة لجين مرض وراثى أن يكشف عن وجوده فى الجنين قبل الولادة ، إذا كان ثمة ما يدعو

إلى ذلك ، حتى تتنبه الأم فتفكر فى أمر الإجهاض أو إبقاء الحمل . كما أن مثل هذه المسابر قد تُستخدم فى كشف حمل بعض الأفراد جينات مرضية لا يظهر أثرها إلا فى عمر متقدم ، مثل مرض هنتنجتون Huntington . فالجين المسئول عن هذا المرض ـ وهو سائد ـ لايبدأ فى الإفصاح عن نفسه إلا فى نحو سن الأربعين ، وهو مرض قاتل ، يصيب الفرد أولاً بالاكتئاب ، ثم فقدان السيطرة على العضلات ، لينتهى بتدهور عقلى فظيع يتقدم ، حتى الموت . وحامل الجين لابد أن يصاب بالمرض ـ عادة بعد أن يكون قد أنجب . وكشف وجود الجين فى سن العشرين مثلاً لايعنى بالنسبة لحامله إلا أن يعرف أن جيناته قد حكمت عليه بالموت بهذه الميتة البشعة بعد نحو عشرين عاماً ـ حتى ليحاول الكثيرون ممن يخبرهم التشخيص الوراثى بأنهم يحملون الجين أن ينتحروا . قد يتسبب التشخيص الوراثى إذن فى مشاكل إنسانية وأخلاقية يلزم مواجهتها .

الفاكسينات
vaccines

للجسم جهاز مناعى مهمته الدفاع ضد الأمراض المعدية ــ لذا فإن أخطر الأمراض هو ما يصيب هذا الجهاز (كالإيدز) إذ يتركه فريسة سهلة لأى كائن مُمْرِض يغزوه . إذا ما استثار الجهازَ المناعى كائنٌ ممرض غزا الجسم ، قامت خلايا الدم بإنتاج أجسام مضادة antibodies خاصةٍ لمواجهته وتسهيل القضاء عليه ، وقد تُضفى المناعة ضده بالذات لفترات طويلة . من الممكن أن يُستثار الجهاز المناعى لإنتاج الأجسام المضادة ضد الميكروب قبل أن يُصاب الفرد به ، وذلك عن طريق التحصين بالفاكسينات . تعمل الفاكسينات بالجسم لأن كرات الدم البيضاء لا يلزمها وجود نفس الكائن الحى المُمْرِض حتى تنتج الأجسام المضادة له ، فما يستحث كراتِ الدم البيضاء فى الواقع هى جزيئات نوعية خاصة توجد على غلافه أو بجوفه تسمى الأنتيجينات antigens (ولكل أنتيجين جسم مضاد خاص) ، والتحصين

بالفاكسينات يعنى إدخال هذه الأنتيجينات إلى الجسم قبل الإصابة ، بطريقة مأمونه ، كى يُسْتَحَثّ وينتج الأجسام المضادة ، حتى إذا حدث وغزا الميكروب الجسم وَجَدَه مجهزاً ومستعداً بالفعل لمواجهته .

هناك طرق ثلاث معروفة لتحضير الفاكسينات . أولها أن نستعمل ماقد نجده فى الطبيعة من أقارب للكائن الممرض تكون غير مؤذية ، أو أن نستنبط سلالةً من هذا الكائن مستضعفةً attenuated لاتؤذى . ونجاح مثل هذه الفاكسينات الحية يرجع إلى أنها تحمل واحداً أو أكثر من الأنتيجينات التى يحملها الميكروب الممرض . ومن أمثلة هذه الفاكسينات فاكسين الجدرى smallpox . [وجد أن أجساد نحو نصف من يصابون بفيروس العنز caprine arthritis encephalitis (C A E V) تنتج أيضاً أجساماً مضادة لفيروس الإيدز ـ أحد أقارب فيروس العنز ـ الأمر الذى قد يزكى استخدام الفاكسين المصنوع من فيروس العنز فى الوقاية من مرض الايدز] . أما الطريقة الثانية فيُقتل فيها الكائن المُمْرِض ، بالفورمالين مثلاً ، ليُحقن الجسمُ به ميتاً ، فقد وُجد أن جزيئات الأنتيجينات فى بعض هذه الكائنات الميتة كثيراً ما تكون فعالة لدرجة مذهلة . ومن أمثلة هذه الفاكسينات ، فاكسين سولك لمرض شلل الأطفال . ترتكز الطريقة الثالثة على حقيقة أنه يكفى لاستثارة الجهاز المناعى للجسم جزءٌ فقط من الميكروب ، لا كله حياً أو ميتاً ، أى لايلزم أن يكون الجسم مستعداً لمقاومة كل أنتيجينات الكائن المُمْرِض ، ويكفى أن يواجه واحداً منها فقط . يُحَضَّر إذن الفاكسين من جزىء واحد موجود على غلاف الميكروب ، أو من صورة محورة من جزىء توكسين toxin (سُمّ) ينتجه الميكروب . ومن أمثلة هذه الفاكسينات فاكسين الدفتريا وفاكسين التيتانوس .

يواجه إنتاج الفاكسينات بهذه الطرق التقليدية مشاكل كثيرة ، فهى تتطلب إمكانيات ضخمة وتتضمن الكثير من المحاذير ، مثل الحاجة إلى تكثير كميات هائلة من الكائن المُمْرِض ، أو إلى كميات هائلة من الدم لتنمية

الميكروبات ، ومثل احتمال أن يلوّ الفاكسين بالكائن المُمْرِض حياً . يمكن للبيوتكنولوجيا الحديثة أن تصنّع جزىء الأنتيجين كيماويا ، فالأنتيجين عادة هو مجرد جزىء بروتيني يمكن أن نعرف تسلسل الأحماض الأمينية به ، وأن نبنى مثيلا له بالمعمل . لكن الأمر يصبح فى غاية الصعوبة إذا كانت سلسلة الأحماض الأمينية طويلة . لكن اتضح أنه لايلزم فى الحق لاستثارة المناعة فى الجسم أن يوجد جزىء بروتين الأنتيجين بأكمله ، إنما فقط فى كثير من الأحوال جزء معين قصير منه ـ يتراوح طوله عادة ما بين ثمانية وعشرة أحماض أمينية ـ يسهل تصنيعه أو انتاجه بيوتكنولوجيا . والمهم إذن أن يُحَدَّد هذا الجزء من كل أنتيجين . تسمى هذه الفاكسينات باسم الفاكسينات الصغرى subunit vaccines .

كانت أولى محاولات البيوتكنولوجيا الناجحة فى حقل تحضير الفاكسينات الصغرى هى إنتاج فاكسين لمقاومة الالتهاب الكبدى ب hepatitis B ، بكميات تكفى لتحصين مجتمعات كبيرة من البشر . يصيب فيروس هذا المرض كبد الإنسان فيتلفه وقد يؤدى إلى السرطان . أمكن التوصل إلى تتابع الجين المشفِّر لأنتيجينٍ يوجد على غلاف الفيروس . لكن لم تنجح كلْونته فى البكتريا ، فاتجه العلماء إلى الخميرة . كلْونوا الجين فى بلازميد دفعوا به داخل الخميرة *Saccaromyces cerevisiae* ، فاستوعبته وأنتجت من الأنتيجين كميات وفيرة ـ كان فعله يشبه فعل البروتين الفيروسى إلى حد كبير ، ونجح فى تحصين البشر ضد هذا الفيروس . استُخدمت هذه الطريقة أيضاً فى إنتاج فاكسينات لأمراض عديدة فى الإنسان والحيوان (منها مرض الحمى القلاعية فى الماشية foot & mouth disease) . (والواقع أنه من الممكن أن يحوِّر الفيروس الممرض نفسه بأن نزيل ما به من جينات ممرضة ، ثم ندفع به داخل الجسم البشرى كفاكسين) .

الأجسام المضادة النقية
monoclonal antibodies

لكنا نستطيع أن نواجه المشكلة بطريقة أخرى . ماذا لو صنَّعنا الأجسام المضادة ذاتها ، بدلاً من أن ينتجها الجسم ؟ يُحقن أنتيجين الكائن المُمْرِض مثلاً فى حصان أو أرنب ، ثم نستخلص من دمه الأجسام المضادة للأنتيجين لنعالج بها من يحتاجها . هذا فى الواقع ممكن ، لكن القدر الناتج من الأجسام المضادة المطلوبة سيكون ضئيلاً ، ثم إنه سيكون مختلطاً بالعديد من الأجسام المضادة الأخرى . لكن الجسم المضاد على أية حال ليس سوى بروتين ، بروتين كبير يُحَدَّدُ وراثياً . وكما ندفع خلية بكتيرية مثلاً إلى صناعة بروتين الإنسولين ، يمكننا أن نجعل الخلايا الحية خارج أجسامنا مصنَعَنَا ، لتقوم هى بإنتاج الأجسام المضادة فنستخلصها نحن للعلاج .

الأجسام المضادة كما رأينا نوعيَّة . للأنتيجين الواحد جسم مضاد واحد فقط يشتبك معه ، سطحه مجهز للتعرف على منطقة بذاتها من هذا الأنتيجين ولا غيره . هناك الآلاف المؤلفة من الأنتيجينات ، والجسم يستطيع أن ينتج لكل منها الجسم المضاد الذى يوافقه . ولقد تستخدم هذه الأجسام كما ذكرنا فى العلاج ، لكنها قد تستخدم أيضا كعدة تشخيص نشخص بها تشكيلة عريضة من الأمراض ، بل وحتى من المنتجات . ولقد حاول العلماء طويلاً إنتاج الجسم المضاد ، بكميات نقية ، لأى أنتيجين بذاته : مُنْتَج لايحمل إلا نوعاً واحداً فقط من الأجسام المضادة ، حتى نجح سيزار ميلشتاين Cesar Milstein وجورج كوهلر Georges Kohler عام ١٩٧٦ من ابتكار تقنية جديدة لإنتاجها ـ تقنية تحولت بسرعة لتصبح صناعة هائلة : تقنية إنتاج الأجسام المضادة النقية من الهيبريدومات . بل لقد أنشىء فى عام ١٩٨٤ " بنك بيانات الهيبريدومات " ليعمل كمركز للمعلومات عنها ، إذ تضاف الآلاف من خطوط هيبريدومات جديدة فى كل عام .

يصعب فى المستنبت بالمعمل أن تُستزرع خلايا ب التى تنتج الأجسام المضادة فحياتها قصيرة . وخلية ب الواحدة لا تنتج إلا نوعاً واحداً فقط من الأجسام المضادة . قام العالمان بحقن فأر بالأنتيجين المطلوب تحضير الأجسام المضادة له ، فأنتج خلايا ب المنتِجة لهذه الأجسام . ثم كان أن دمج العالمان خلية ب مأخوذة من طحال الفأر ، فى خلية سرطانية ، فنتجت خلية هجينة تسمى هيبريدومة hybridoma أمكن اكثارها لتنتج كلوناً clone . ومثل هذه الهيبريدومات يمكن استنباتها فى المعمل وتكون خالدة immortal ، فتنقسم إلى مالا نهاية منتجة كميات هائلة من الجسم المضاد الوحيد الذى تخصصت فيه . [ومن الممكن أن تُحفظ هذه الهيبريدومات فى النتروجين السائل (على درجة حرارة ــ ١٩٦°م) فيما يسمى بنوك الخلايا cell banks] . يمكن لهذا الجسم المضاد أن يتعرف على نمط واحد لموقع أنتيجينى ــ مثلاً تجمع من خمسة أحماض أمينية أو ستة تكوّن سلسلة جانبية على سطح بروتين . ولقد استعملت مثل هذه الأجسام المضادة النقية فى علاج أمراض كاللوكيميا (سرطان الدم) : إذ يوجد على أسطح كرات الدم المصابة بالمرض أنتيجينات خاصة مميِّزة ، أمكن إنتاج هيبريدومات تحمل خلايا ب الملائمة لها ، تقوم بإنتاج وفرة من الأجسام المضادة النقية ، التى تحقن فى الجسم فتقتضى على خلايا الدم المصابة .

من الممكن أن تستخدم هذه الأجسام المضادة النقية كوسيلة عالية التخصص فى تشخيص الأمراض . نحن نعرف مثلاً أن خلايا الأورام السرطانية تحمل على أسطحها بروتينات خاصة تميزها عن الخلايا السوية . فإذا أمكن تمييز هذه البروتينات ، فمن الممكن صناعة الأجسام المضادة لها كما ذكرنا ، ومن الممكن أن نستخدم هذه الأجسام فى كشف وجود المرض ، حتى قبل أن تظهر الأورام بحيث يمكن البدء مبكراً فى العلاج . بل ومن الممكن أن تستغل هذه الأجسام النقية مثلاً فى كشف أنواع لحوم الحيوانات فى اللحم المفروم ، المستعمل فى صناعة السجق . فإذا تمكنّا من معرفة جزىء خاص لايوجد إلا فى لحم الخنزير أو لحم الكلاب ، ففى مقدورنا أن نصنِّع

الأجسام المضادة النقية لـه لنكشف بها عن وجوده فـى أى عينـة مـن اللحـم المفروم .

البصمـة الوراثيـة
genetic fingerprint

تستخدم الفنترات (المكررات الترادفية المتباينة العدد) كما ذكرنا فـى تحديد البصمة الوراثية وتتخذ دليلاً للاتهام فـى سـاحات القضـاء ، وذلـك بـأن تؤخذ عينة من القرينة البيولوجية التى تركها المجرم (نقطة دم مثلاً أو شعرة أو حيوانات منوية فى جرائم الاغتصاب) ، ثم تُعَرَّض لإنزيـم تحديـد يشـطئ الدنا حول فنتر فى العينة وكذا فى عينة أخرى تؤخذ من دم المشـتبه فيـه ، أو يستخدم التفاعل المتسلسل للبوليميريز فـى تكثير فنتر نعـرف تتـابعين علـى جانبيه نستخدمهما طليعتين . يجرى تفريد الشظايا لكل من العينتين فـى جهـاز التفريد الكهربائى ـ الذى يقوم بفصل الشـظايا علـى الجيـل تبعـاً لحجمهـا عنـد تمرير التيار الكهربائى ، وتحريكها (الأكبر أبطأ) ـــ لتُغْمَر شـظايا كـل مـن العينتين فـى مسـابر مشـعة تحمـل تتابعـاً قصـيراً مـن منطقـة أحـد الفنـترات ، فتقترن بالتتابعات المكملة لتظهر شرائط مشـعة تتطـابق فـى العينتيـن إذا كـان المشـتبه فيـه هـو المجـرم (مـن الممكـن بهـذه الطريقـة أن نمـيز عـدداً مـن المكررات فى كروموزومى الفرد ـ فقد يختلف العدد فـى الكروموزوم الآتـى من الأب عن الآتى من الأم) . تُفْحَص عـادة أربعـة مواقـع لفنـترات لتقليـل احتمالات الخطأ .

بعض استخدامات التفاعل المتسلسل للبوليميريز

لهذه التقنية استعمالات غاية في الأهمية في مجالات طب الإنسان والوراثة البشرية . هي تقنية غاية في الحساسية ، تمكننا من إنتاج أعداد هائلة من أى تتابع (أو جين) بذاته يهمنا دون اللجوء إلى الكَلْوَنة في ميكروب . وبها يمكن تحديدُ هُوية ، وتكثيرُ ، الجزء من الدنا البشرى الباقى فى الخطوط الخلوية الناتجة عن تهجين خلايا الفأر بخلايا الإنسان . فالعادة ــ كما سبق أن ذكرنا ــ أن تُطْرد كروموزومات الإنسان مع الانقسام ، ليتبقى جينوم الفأر ومعه كروموزوم بشرى أو جزء من كروموزوم .

يحتوى الجينوم البشرى على مايقرب من ٩٠٠ ألف نسخة من تتابع مكرر يسمى ألو Alu repeat ، حتى لنجد نسخة منه داخل أو قرب كل جين بشرى . يبلغ طول مكرر ألو ٣٠٠ زق ، وكل هذه المكررات تحمل التتابع أ ج ث س (وهذا موقع تعرف لإنزيم بتر إسمه ألو ١ Alu I) ، ولها جميعاً ذيل طويل كله من النوتيدات أ . توجد مكررات ألو هذه فى جينوم كل الثدييات ، لكن هناك تتابعاً داخلياً فى مكرر ألو البشرى لايوجد إلا فى جينومنا .

إذا عولجت الخلايا الهجين بإنزيم ألو ١ ، ثم اخترنا طليعتين من التتابع المميز لنا الموجود بمكرر ألو البشرى ، وأجرينا التفاعل المتسلسل ، أمكننا أن نلتقط rescue ، ونكاثر تتابعات الدنا الشرى وحده من بين كل الشظايا الناتجة عن تشظى جينوم الفأر بالخلية .

يفيد التفاعل المتسلسل أيضاً فى كشف بعض مايحدث من طفرات فى جينات السَّرْطَنة oncogenes فى الإنسان وتحيلها إلى جينات مُسَرْطِنة . فالمعروف مثلاً أن الطفرات فى جين السرطنة راس ras تحدث فى الكثير

من أنواع السرطانات البشرية . ولقد بينت الفحوص السريعة بهذا التفاعل المتسلسل لدنا خلايا سرطانية مأخوذة من مرضى السرطان اللمفاوى الخبيث أن الصور المختلفة من المرض تنتج عن طفرات مختلفة فى جين راس .

كما تخدم هذه التقنية فى تشخيص وجود بعض السرطانات . تنشأ الليمفوما الحويصلية follicular lymphoma عن انتقال translocation يحدث ما بين الكروموزومين ١٤ و ١٨ فى الإنسان ، إذ يرحل جزء محدد من الموقع الدناوى (أ) ، المشفِّر للسلسلة الثقيلة لجلوبيولين المناعة immunoglobulin ، على الكروموزوم ١٤ ، إلى موقع (ب) جين سرطنة الثدى BCL2 على الكروموزوم ١٨ . من الممكن أن نصمم طليعتين واحدة للطرف ٣َ من الموقع أ والأخرى للطرف ٥َ من الموقع ب . فإذا ما عُرِّض الدنا للتفاعل المتسلسل ، فإنه يضاعف مقطعاً دناوياً (طوله ٣٠٠ زق) إذا كان هناك بالفعل انتقال ، ليشير ذلك إلى وجود المرض ، وإلا التحم المقطعان كلٌ بمنطقته المكملة على الكروموزوم ١٨ أو ١٤ ، ولم يظهر هذا المقطع القصير .

هناك أمراض مرتبطة بالجنس متنحية ، تقع جيناتها على الكروموزوم س X ، وتظهر فى الذكور فقط إذا كان الكروموزوم فى الجينوم يحملها . تتجنب النسوة (ذوات التركيب الخليط للجين) أن يحملن جنيناً ذكراً إذا قررن أن يتم الاخصاب خارج الرحم ليُنقل الجنين إلى أرحامهن . من الممكن هنا أن تؤخذ خلية واحدة لا أكثر من كل جنين يتم انتاجه فى المعمل (عندما يكون عدد خلايا الجنين عشرة) . تفحص الخلية بالتفاعل المتسلسل لوجود بعض من تتابع يسمى DYZ1 . هذا التتابع لايوجد إلا على كروموزوم Y وطوله ٣٥٠٠ زق ومنه على هذا الكروموزوم نحو ٥٠٠٠ نسخة ، يستعمل التفاعل المتسلسل فى تكثير مقطع منه طوله ١٤٩ زق ، لا يظهر بالطبع إذا كان الجنين أنثى .

بل ومن الممكن أن تستغل هذه التقنية فى إجراء تحليل للارتباط بين جينين باستعمال حيوانات منوية مفردة . تحدث كما رأينا أثناء عملية الانقسام الميوزى أن تتبادل الكروموزومات بعض المقاطع فيما يسمى " العبور " crossing over فتخرج كروموزومات مؤشبة تتوقف نسبتها على البعد بين الجينين . فإذا أخذنا عدداً كبيراً من الحيوانات المنوية من شخص خليط فى كل من موقعين ، وعرضنا دناها واحداً واحداً لتفاعل بوليميريز متسلسل يستعمل فيه فى نفس الوقت طليعتين لكل جين ، ثم اختبرت النتائج من كل واحد من الحيوانات المنوية بمسابر للأليلات الأربعة ، أمكننا أن نعرف نسبة التأشيب ونحدد المسافة بين الجينين .

مشروع الجينوم البشرى
human genome project

ربما كان مشروع الجينوم البشرى هو أخطر ما تقوم به البيوتكنولوجيا الآن من مشاريع ، بل هو أخطر ما قامت به البشرية من مشاريع بيولوجية . بدأ هذا المشروع رسمياً بالولايات المتحدة فى عام ١٩٩٠ ، والمفترض أن ينتهى من مهمته فى ظرف خمسة عشرة عاماً ، أى نحو عام ٢٠٠٥ . انضمت إلى الولايات المتحدة الآن دول عديدة منها انجلترا وفرنسا وإيطاليا واليابان . والمهمة الأساسية لهذا المشروع هى سَلْسَلَةُ الثلاثة آلاف مليون نوتيدة التى تشكل المادة الوراثية للبشر ، وخَرْطَنَة وتحديد هوية المائة ألف جين أو نحوها الموجودة بجينومنا ، وتحسين وتطوير تقنيات السَّلْسَلة لتستفيد منها المجالات الأخرى من أوجه البيولوجيا (وقد اعتُبرت هذه مهمة رئيسية) ، ثم فَحْص ودراسة الآثار الاجتماعية لإزاحة الستار عن الجينات التى تكوِّننا (وقد خُصِّصت لهذه الدراسة وحدها ٣٪ من ميزانية المشروع الأمريكى) . سيقوم مشروع الجينوم البشرى بجانب خَرْطَنة جينوم الإنسان بخرطنة جينومات خمسة من الكائنات الحية الأخرى : بكتريا

إيشيريشيا كولاى (وقد تم بالفعل يوم ١٩٩٧/١/١٦ الانتهاء من سلسلة جينومها ، واتضح أنه يتألف من ٣٦٣٨٨٥٨ زق تشكل ٤٢٨٦ جينا) ، والخميرة (وقد تم الانتهاء من خرطنة جينومها عام ١٩٩٦ وبلغ طوله نحو ١٢ مليون زق) ونيماتودا سينورابديس *Caenorrhabdis* (وطول جينومها يبلغ نحو ١٠٠ مليون زق) وذبابة الفاكهة ، الدروسوفيلا (نحو ١٨٠ مليون زق) ، والفأر (نحو ٣٠٠٠ مليون زق) .

سيخدم كشف جينومات هذه الكائنات النموذج فى المقارنة والتعرف على الوظيفة المحتملة لبعض الجينات البشرية . ولقد ثار فى البداية جدل طويل حول لزوم معرفة البلايين الثلاثة من النوتيدات بطاقمنا الوراثى ، إذا كنا نعرف أن ٩٥٪ منها هى من سَقَط الدنا الذى لا يشفر لشىء نعرفه . وانتهى الجدل إلى ضرورة أن نعرف كل شىء عن جينومنا حتى الأجزاء منه التى تبدو لغواً ، فقد لاتكون كذلك .

على عام ١٩٩٦ ــ بعد بدء مشروع الجينوم بنحو ست سنوات ــ كان قد خُرْطِن من الجينات البشرية ، وَرُدَّ إلى مواقعه التقريبية على الكروموزومات نحو ٢٧٠٠ جين ، كُلْوِن منها نحو ١٠٠٠ . ومن بين الألفين وسبعمائة جين ، هناك نحو ١٥٠٠ من الجينات المسببة للأمراض الوراثية ، كما تم تقريباً الانتهاء من المسح الكامل للكروموزومين ١٦ ، ٢١ . وفى ٦ أكتوبر عام ١٩٩٦ أعلن أن عدد الجينات البشرية التى تمت خرطنتها قد بلغ ٦٢٨٩ جينا .

سيكون الجينوم الناتج لشخص تركيبىٌ (يصبح مرجعاً للمقارنة) ، شخص سيكون بالطبع ذكراً (فمن اللازم أن نُسَلْسِلَ الكروموزوم ص Y) لكنه مزيج من قطع دنا مأخوذة من مصادر بشرية مختلفة ــ دناً مُركَّباً مُجَمَّعاً من سلالات البشر المختلفة ، وليس دنا شخص بذاته .

سيتكلف المشروع العالمى نحو ١٢ بليون دولار ـ أضخم مهمة بيولوجية اضطلع بها الانسان ، وسيكشف لنا فى النهاية عن التركيب الجزيئى للجينات البشرية على خريطةٍ جزيئية . وسيتطلب الأمر أن يحتشد العلماء لمحاولة تفسيرها وتفهمها ، سيحتاج إلى عبقريات تفك رموزها وتجلى معناها. ستغير النتائج حتى من فلسفتنا فى الحياة ، وستفتح الباب لمجالات جديدة هائلة فى كل آفاق علوم الحياة ، ولدراسات أعمق فى التطور وفى العلاقات الوراثية بين الكائنات الحية ، وستثير قضايا اجتماعية وأخلاقية وقانونية لم يواجه مثلها الانسان قبلا .

(٤)

البيوتكنولوجيا فى الزراعة

(أ) الزراعة النباتية

بدأ الانسان " الثورة الخضراء " الأولى منذ نحو إثنى عشر ألف عام فى منطقة الهلال الخصيب ، عندما استقر وابتكر الزراعة . ثم عكف منذ ذلك التاريخ على محاولة تحسين محاصيله وحيواناته . يمكننا أن ندرج كل ما قام به الإنسان فى هذا الخصوص تحت عنوان " التحسين الوراثى " . ولقد تضاعفت خطى هذا التحسين فى بداية قرننا هذا مع إعادة اكتشاف مندل ، ليغدو التحسين الوراثى مهنة أثمرت فى الستينات " ثورة خضراء " جديدة أنتجت سلالات من القمح والذرة والأرز غزيرة المحصول بشكل مذهل (٤ ـ ١٠ أضعاف محصول السلالات المحلية) ـ سلالات ساهمت حقا فى توفير الغذاء لمواجهة الانفجار السكانى فى دول مثل الهند وبنجلاديش وباكستان .

تمكن مربو النبات إذن بطرق الانتخاب الوراثى من رفع إنتاجية المحاصيل الزراعية . استنبطوا معظم ما نراه الآن من سلالاتٍ وأصنافٍ محاصيل الحقل والخضراوات والفاكهة والزينة ، بل وحتى السلالات الاقتصادية من البكتريا والخمائر والفُطر . ولقد كان تقدمهم محكوماً بالمستودع الجينى للنوع الذى يعملون عليه وما يحويه من جينات ـــ يفتشون فيه بطُرُقهم عن تباين وراثى ، عن جينات جديدة نافعة وطفرات مفيدة ، يقتنصونها ويكثرون منها ويثبِّتونها فى سلالاتهم . ولقد يلجأون إلى الأقارب

البرية بحثاً عن صفات وراثية لا تتوفر فيما بين أيديهم من نباتات ، فإذا وجدوها قاموا بتهجين سلالاتهم بها ، ثم طفقوا ينتخبون ثانية ، فى عملية مرهقة تستهلك المال والزمن . هم لم يستطيعوا أن ينتجوا سلالة من الذرة يتوفر فى دقيقها حمض اللايسين الأمينى ــ الهام جدا فى تغذية الانسان ــ فليس فى المستودع الجينى لهذا النبات من التباين فى هذه الصفة ما يمكنهم اللجوء إليه . هم لم يستطيعوا أن ينتجوا أزهاراً زرقاء فى نباتات الورد أو القرنفل carnation أو الأقحوان chrysanthemum أو الجيربيرا gerbera ، فالجهاز الوراثى لهذه الأنواع النباتية ببساطة لا يحمل من الأصل جينا للّون الأزرق .

وبعد ما شهده هذا القرن من تحولات رفعت الإنتاج الزراعى النباتى بشكل ملحوظ ــ ميكنة الزراعة ، البذور الهجينة ، المخصبات الجديدة ، مبيدات الآفات ــ جاءت البيوتكنولوجيا الحديثة تحمل معها آمالا كبارا : ابتُكِرَت تقنيات الدنا المُطَعَّم ونقل الجينات وزراعة الأنسجة ودمج الخلايا ، وفَتَحت مجالاً جديداً تماما : فتحت أمام المربى المستودعَ الجينى لكل الأنواع ــ ميكروبية أو نباتية أو حيوانية ــ يأخذ منه ما يشاء وينقله إلى أى نوع نباتى يشاء . لم يعد من الضرورى أن نجد الجين المطلوب فى الجهاز الوراثى للنوع الذى نحسنه ، يكفى أن نعرف بوجوده فى أى نوع آخر ، فننقله . نستطيع أن نعزل الجين المسئول عن اللون الأزرق الذى تحمله نباتات البيتونيا petunia الزرقاء الزهرة (وقد تم هذا) ثم ننقله بطرق الهندسة الوراثية إلى سلالة الورد لدينا ، ليُنتِج لدينا : نفس سلالة الورد بكل خصائصها ، سوى أن أغصانها ستحمل ورودا زرقاء .

يعتمد النجاح فى تطعيم خلايا النبات بالجينات الغريبة على النجاح فى استزراع الخلايا المطعمة جينيا ، بزراعة الأنسجة ، وإمكان تنميتها إلى نباتات كاملة تحمل الجين (أو الجينات) الغريبة ــ فزراعة الأنسجة هى التقنية الجديدة المكملة للهندسة الوراثية فى النبات ، وسنعرض كلمة قصيرة عنها :

زراعة الأنسجـــة
tissue culture

من الممكن استنبات الأنسجة النباتية والخلايا فى بيئة مغذية يختلف تركيبها باختلاف نوع النبات وباختلاف الجزء المستنبت (جزء من ورقة أو من ساق أو من جذر ، أو قمة نامية ... إلخ) ، لكن هذه البيئات جميعا لابد أن توفر ما تحتاجه الأنسجة والخلايا من مواد غذائية وتنشيطية . فلما كانت الأنسجة النباتية المنفصلة لا تستطيع عادة توفير الكربوهيدرات لنفسها ، فمن اللازم أن يُوَفَّر لها مصدر يمدها به ، عادة ما يكون سكر السكروز sucrose . وهى تستطيع أن توفر بنفسها الأحماض الأمينية ، غير أن إضافة البعض منها قد يشجع النمو والتضاعف . ولقد تضاف أيضاً فيتامينات ومواد أخرى كلبن جوز الهند أو مستخلص الخميرة لنفس الغرض . هناك ستة عناصر غير عضوية يلزم أيضاً توفيرها هى : النتروجين (على صورة نترات أو أمونيا) ، والفسفور (فى صورة فوسفات صوديوم أو بوتاسيوم) ، والبوتاسيوم (فى صورة كلوريد أو نترات بوتاسيوم) ، والكالسيوم (فى صورة كلوريد أو نترات كالسيوم) ، والمغنسيوم والكبريت (فى صورة سلفات مغنسيوم) . وهناك أيضاً ستة عناصر أخرى صغرى لازمة هى النحاس والزنك والمنجنيز والحديد والبورون والمولبدينيوم ــ بالإضافة إلى منظمات النمو من الهرمونات النباتية : الأوكسين auxin والسيتوكينين cytokinin : فالأوكسين ينشط تكوين الأحماض النووية والكالّس callus ونمو الخلايا وتكوين الجذور ، أما السيتوكينين فينشط انقسام الخلايا وتكوين النموات الخضرية ويثبط تكوين الجذور . يعتمد التشكيل المورفولوجى على نسبة هذين الهرمونين فى البيئة المغذية ، وعلى تركيز كل منهما ــ فزيادة نسبة الأوكسين إلى السيتوكينين تنشط الأجنة وتكوين الجذور والكالّس ، والعكس ينشط النموات الخضرية والأفرع . يستخدم البكتين pectin فى إعطاء البيئة المغذية قوامها الصلب أو نصف الصلب ، بينما يستخدم الماء المقطر فى حالة البيئة السائلة .

عندما توضع القِطَع من أجزاء النبات المطلوب استزراعها فـي البيئـة المغذية تنشط الخلايا بالأجزاء المجروحة الملامسة للبيئة ، فتتكون كتلـة مـن الخلايا البرانشيمية تسمى كالّص فى ظرف ٣ ـ ٤ أسابيع . تُترك هذه لتكبر حتى يصل قطرها إلى ٢ ـ ٣ سم ، فتُفصَل وتُجزأ إلى قطـع صغيرة تـزرع فى بيئة مغذية أخرى ذات تركيب هرمونـى ينشط تكويـن الجـذور والـبراعم الخضرية والأفرع والأوراق ، لتُنقل النبيتات إلى الصوبة أو الحقل حيث تنمو إلى نباتات كاملة ـ وقد يصل ما ننتجه من كتلة كـالّص واحـدة إلـى خمسمائة نبات .

قد يواجه المربى عقبات كثيرة يلزم حلها بالنسبة للكثير من محـاصيل الحقل التى لا تستجيب خلاياها بسهولة للتكاثر فى مـزارع الأنسجة . كمـا أن الكثـير مــن الصفــات الاقتصاديــة الهامــة لمحــاصيل الحقـل صفــات كميــة quantitative traits ترتكـز وراثتهـا علـى عـدد كبير مجهـول مـن الجينـات (تسمى بوليجينات polygenes) ، لا علـى جيـن واحـد كمثـل مـا قـد يتمكـن المهندس الوراثى من التعـامل معـه . والطريـق لا يـزال مفتوحـاً أمـام علمـاء الوراثة الجزيئية لمحاولة حل قضية الصفات البوليجينية هذه .

التوماتـيـــــن
taumatin

هناك نبات ينمو بغـرب أفريقيـا اسمه كـاتيمف katemfe أو " فاكهـة الســودان الأعجوبـــة " (واســـمه العلمـــى : تومـــاتوكوكّص دانيليــــاى *Thaumatococcus daniellii*) ، يعطـى ثمـاراً حمـراء صغيرة غايــة فــى الحلاوة بسبب احتوائها على مادة تسمى التومـاتين . تقـول موسـوعة جينيس للأرقـام القياسية إن هـذه المـادة هـى أحلـى مـادة يعرفهـا الإنســان ، إذ تبلـغ حلاوتها ٢٠٠٠ ـ ٢٥٠٠ ضعف حلاوة السكروز (سكر القصب) sucrose فى محلول تركيزه ٨ ـ ١٠ ٪ .

والتوماتين بروتين نباتى يعطى من السُّعرات مثل غيره من البروتينات (٤ كيلوكالورى / جرام) ، غير أن استخدامه فى تركيزات تبلغ بضعة أجزاء فى المليون يعنى أنه فارغ حرارياً . والإنسان والحيوان يستطيعان هضمه كاملاً . وإذا جُفِّد (جُفِّف بالتجميد) freeze dried ظل مسحوقه ثابتا تحت درجات الحرارة العادية ، كما يظل ثابتا أيضاً فى عمليات التصنيع حتى درجة حرارة ١٢٠ مئوية . ولقد قامت إحدى الشركات بتحضيره تجاريا تحت اسم تالين Talin ، وهو يستخدم كمُحَلِّى sweetener طبيعى لمرضى السكر ، وقد أجيز استخدامه فى أسبانيا واستراليا واسرائيل وأمريكا وجنوب افريقيا والدانيمرك ودول السوق الأوربية وسويسره ونيوزيلنده واليابان .

للتوماتين خصائص فريدة بجانب كونه مُحلِّياً ، فهو فى تركيزاته الضعيفة جداً يحجب الطعم المر الكريه لأيونات المعادن ، كالصوديوم والحديد والبوتاسيوم ، وبذا يستخدم فى إخفاء المذاق المتأخر after taste للسكارين ولبعض العقاقير التى تحمل معادن مضافة . كما أنه يكبت الطعم المر لمنتجات ثمار الموالح وعصائرها . ثم إنه يرفع استجابة مستقبلات الذوق فى الفم للمُنكِّهات من قبيل النعناع والزنجبيل والقرفة والبنّ ، فيعزز نكهتها كما يقلل أثرها الحرّيف أو اللاذع أو المر . وبالإضافة إلى ذلك فإنه يعزز حلاوة غيره من المُحليات : فمن الممكن أن نخفض ٣٠٪ من نسبة الأسبارتيم aspartame فى مشروباته ، بإضافة عشرة أجزاء فى المليون من التوماتين ، دون أن نخفض من مستوى الحلاوة الأصلية .

من الممكن بالطبع أن يستخدم التوماتين منفردا فى إعداد الحلوى ، لولا أنه يذيع طعما كالعرقسوس licorice إذا زاد تركيزه ، ومن ثم يقتصر استعماله على الحلوى التى لا تتطلب أكثر من ١٠٪ من السكروز .

التوماتين جزىء بروتينى نباتى ثمين ، يتألف من سلسلتين من الأحماض الأمينية ، لاتختلفان كثيراً عن بعضهما ، طول كل منهما ۲۰۷ حمضا ، تربطهما ثمان روابط من الدايسلفايد disulfide . ولقد أمكن عزل الجين المشفِّر للتوماتين من نبات الكاتيمف ، وأمكن بالهندسة الوراثية إيلاجه فى ميكروبات تقوم بإنتاجه بكميات تسويقية . يحاول بعض العلماء الآن إيلاج الجين فى خلايا نبات الكاكاو ، لتنتج الشجرة الكاكاو حلواً بالفعل دون زيادة فى سعراته . من الممكن بهذا الجين أن ننقذ نباتا كالشمام الذى كاد أن يختفى من أسواقنا فى مواجهة الكانتالوب ، فإيلاج هذا الجين فيه سيرفع من حلاوة ثماره دون زيادة فى السكر ، الأمر الذى قد يعيد هذه الثمرة إلى مكانها السابق على موائدنا . ومن الممكن أيضا أن يولج جين التوماتين هذا فى نبات غزير المحصول كالطماطم ، ليستخلص التوماتين من الثمار بكميات تسويقية.

ولقد يفيد هنا أن نذكر أن هناك عائلة من البروتينات تشبه التوماتين فى تركيبها ، تسمى عائلة التوماتين taumatin family ، عُثِر عليها فى بعض النباتات ، عادة فى سوائل ما بين الأنسجة intercellular fluid ، وتشفر لها جينات خاصة ، ويُفترض أنها تعمل فى الدفاع عن النبات ضد الفطريات . أمكن كشف أفراد من هذه العائلة فى نباتات مثل الترمس *Lupimus albus* ، والشعير *Hordeum vulgare* والطِّباق *Nicotiana tabacum* والذرة ، والأرابيدوبسيز *Arabidopsis* والكريز *Prunus avium* .

البيوتكنولوجيا ومقاومة الآفات النباتية

ليس للنباتات جهاز مناعى ـ كالحيوانات ـ تدافع به عن نفسها ، لكنها قد طوَّرت حيلا وطرقا لتسعفها فى مقاومة الحشرات والأمراض الفيروسية أو البكتيرية أو الفُطرية . ربما أمكننا أن نقول إن الجينات المشفرة لبروتينات عائلة التوماتين (وعائلات أربع أخرى غيرها معروفة) تشكل ما يمكن اعتباره آلية للدفاع . وهناك نباتات تنتج بروتينات لقتل الحشرات أيضاً . من

بين هذه البروتينات المضادة للحشرات هناك مثبط التربسين trypsin inhibitor . هذا البروتين يثبط نشاط إنزيم التربسين الذى تفرزه بعض الحشرات لهضم خلايا النبات حتى تصبح فى صورة يمكنها أكلها ، مخلفة ثقوبا فى أورق النبات أو سوقه . فإذا ما ثُبِّط فعل هذا الإنزيم ماتت الحشرة جوعاً .

نجح العلماء فى كَلْوَنة جين مثبط التربسين من نبات اللوبيا cowpea ، وإيلاجه فى الجهاز الوراثى لنبات الطباق . (نباتات الطباق ــ والعائلة الباذنجانية solanaceae عموما ــ هى أفضل النباتات طواعية لتقنية نقل الجينات) . ولقد ثبت أن نبات الطباق عَبْر الجينى transgenic هذا يميت بالفعل من الجوع ديدان البراعم budworms وديدان الحَشْد army worms . ومثبط التربسين هذا لايؤثر فى الإنسان ، إذ يتحلل فى قناته الهضمية . ولقد عُرِف أيضا أن هناك حشراتٍ ، تصيب بعض محاصيل الحقل الرئيسية ، حساسةً لفعل هذا المثبط ، منها دودة كيزان الذرة corn ear worm ودودة نمل الأرز rice ant worm وسوسة لوز القطن boll weevil ، ونقل الجين إلى نباتات الذرة والأرز قد يكون له أثر فعال فى تقليل ما تسببه هذه الحشرات من خسائر فى المحصول .

تقنية الهندسة الوراثية هنا ــ نقل الجينات ــ تقوم بعمل لايمكن للمربى التقليدى القيام به ــ إنها تُدْخِل صفة جديدة تماما إلى نبات لم يعرف بها أبداً . تماما مثلما هو الوضع فى إنتاج الوردة الزرقاء .

ولقد يأتى الجين المُفَضَّل من بكتريا ، لا من نبات . ثمة بكتيرة من بكتريا التربة اسمها باسيلّص تورنجينسز (بى تى) *Bacillus thuringiensis* (Bt) . تحمل هذه البكتيرة جينا يشفر لبروتين سام ليرقات حشرات حرشفيات الأجنحة lepidoptra (ومنها دودة ورق القطن cotton leaf worm) . وكان قد كُشِف عن سمية هذا الجزىء البروتينى ، واستُخدم كمبيد

حشرى بيولوجى منذ أكثر من خمسة وثلاثين عاما . وهذه المادة لا تؤذى الإنسان ولا الثدييات ، وتعمل بأن ترتبط بالمستقبلات على أسطح خلايا القناة الهضمية الوسطية للدودة ، وتوقف عملها ، فتموت الحشرة . تمكنت إحدى الشركات الأمريكية (مونسانتو Monsanto) من عزل هذا الجين من البكتيرة وكلونته ، بعد أن ضوعفت سميته ثلاثمائة مرة ، ثم أولج فى نبات القطن الأمريكى ، كما أولج فى الطباق والطماطم وغيرهما ، ونتجت نباتات تقاوم الحشرات مقاومة ذاتية ـ دون مبيدات . وتجرى الآن محاولات لتحوير هذا السم البروتينى بحيث يصلح لمقاومة مجال أوسع من الحشرات .

تقوم الأجهزة العلمية المعنية فى مصر بمحاولات لإيلاج جين البى تى هذا فى نبات القطن المصرى (وهو من نوع species غير نوع القطن الأمريكى) وفى البرسيم . ولاشك أن هذا المشروع يعتبر مشروعاً قومياً ، بكل ما فى هذه الكلمة من معنى ، يمكن به على الأقل تخفيض الكم الهائل من المبيدات ، المكلفة والملوثة للبيئة ، التى تُنْشر سنوياً فى الريف وتعرّض المزارعين لمخاطر صحية لا يستهان بها .

ستُسهم البيوتكنولوجيا فعلاً فى تنظيف البيئة ، ولقد فتحت مجالا جديداً تماماً فى مقاومة الآفات النباتية لم يكن له قط وجود قبلها ، مجالا لايزال يتسع فى الحقيقة . ثمة مَنْ قد عَزَل وكَلّون جينات حشرية تنتج بالحشرات أجساماً مضادة تقاوم بها بعض ما يصيبها من بكتريا ، ثم أولج الجينات فى الجهاز الوراثى لنباتات البطاطس ، بعد أن عُرِف أنه من الممكن علاج بعض أمراضها البكتيرية بنفس هذه الأجسام المضادة .

وتقنية زراعة الأنسجة فى حد ذاتها قد توفر لمربى النبات وسيلة جيدة وسريعة حقاً لإنتاج سلالات نباتية تقاوم بعض الأمراض ، إذا وجدت بعشيرة هذا النبات جيناتٌ تشفّر لبروتينات مقاومتها (إنما بتكرار منخفض)

فلقد يلاحظ المربى فى حقل أصيب بمرض ما أن بعضا قليلا من النباتات قد قاومه . يستطيع المربى أن يستخدم خلايا هذه النباتات ، فيستزرعها فى مستنبت يحمل المادة السامة التى يفرزها الكائن المُمرض ، لينتخب منها ما يستطيع أن يتحمل السم ، فيستزرعه ثانية ربما بعد أن يرفع تركيز السم فى المستنبت . وهكذا جيلاً خلوياً وراء جيل سيتمكن المربى من إنتاج سلالة من الخلايا مقاومِة ، ينميها إلى نباتات كاملة من سلالة مقاومةٍ للمرض . سنلحظ هنا سرعة إجراء عملية الانتخاب ، مقارَنةً بما كان للمربى أن يفعله إذا كان عليه أن يُعدى النباتات فى الحقل بالكائن المُمْرِض (بما فى ذلك من خطورة) لينتخب منها ما يقاوم ، لبضعة أجيال . إن كل مايلزمه للإنتخاب فى مزارع الأنسجة هو أن يعرف السم أو أن يستخلصه . ولقد نجحت هذه الطريقة بالفعل فى انتخاب سلالة من البطاطس مقاومة للفحة البطاطس potato blight وفى انتخاب سلالات مقاومة للأمراض فى الكثير من النباتات كالطماطم والجزر والبطاطا وغيرها . بل ولقد نجحت فى تطوير سلالة من الذرة مقاومة لبعض أنواع مبيدات الحشائش غير الضارة بالبيئة أو بالإنسان أو الحيوان ، والتى كثيراً ما " تُبيد " المحصول نفسه ــ وانتخاب مثل هذه السلالة من الذرة سينجيها من فعل مبيد الأعشاب عند استخدامه .

كثيراً ما تظهر عن زراعة نسيج نباتى واحد فى مستنبت ، نباتاتٌ تتباين كثيرا (وهذه ظاهرة تسمى " التباين الخضرى الكلونى " somaclonal variation) على الرغم من أنها ، فرضاً ، متطابقة وراثيا . يبدو أن هذا الفرض ليس صحيحاً تماماً ، فمن الممكن للمربى أن ينتخب بينها وينتج سلالات مختلفة ثابتة وراثياً . ولقد أمكن بالفعل استغلال هذه التباينات الخضرية الكلُونية فى استنباط سلالة من قصب السكر مقاومة لمرض العين eyespot disease الذى يسببه الفُطر هلْمنثوسبوريام سكّاراى *Helminthosporium sacchari* ، إذْ أضيف السم الذى يفرزه هذا الفطر إلى مكونات البيئة المغذية بالمستنبت ، لتُرفع نسبته فى كل جيل نسيجى ، حتى

أمكن إنتاج السلالة فى ظرف عام لا أكثر ، وهى المهمة التى لم يكن لمربى النبات التقليدى أن ينجزها فى أقل من عشرة أعوام .

تكنولوجيا زراعة الأنسجة كوسيلة لرفع الإنتاج

وقد تستخدم تقنية زراعة الأنسجة ذاتها فى التكثير الخضرى لنباتات أشجار ممتازة دون اللجوء إلى البذور التى قد تخذل المربى كثيرا . فأنت إذا عثرت على نخلة واحدة أثمرت بلحاً أكثر حلاوة ، أمكنك بتقنية زراعة الأنسجة أن تَنْسخ منها ملايين الأشجار إن أردت ، وأمكنك أن تعرِّض الأنسجة فى المستنبتات لضغوط (مَرَضية أو ملحية أو حرارية) لتنتخب الأفضلَ من الخلايا ــ بينما لا يمكنك بطرق الفلاحة التقليدية (الفسائل) ، أو بطرق التربية المعروفة ، أن تنتج من مثل هذا النبات الطيب إلا عدداً محدوداً من النسل . ولقد نجحت هذه الطريقة نجاحاً باهراً فى نخيل الزيت oil palm الذى كان حتى عهد قريب يُكَاثَر بالبذرة ، فلقد طورت إحدى الشركات العالمية بانجلترا تكنيك زراعة أنسجة هذا النخيل ، لترسِل أولى شتلاتها للزراعة فى ماليزيا عام ١٩٧٦ ، فتثمر عام ١٩٧٨ ، بزيادة فى غلة الزيت تبلغ ٣٠٪ . كما نجحت الآن تقنية زراعة أنسجة نخيل البلح ، وقد يعنى هذا توقعا بزيادة جودة الثمار والمحصول ، وزيادة فى أعداد ما يزرع من الأصناف الممتازة بطيئة التكاثر ، وإغراءً بزيادة المساحات الصحراوية التى تزرع نخيلاً .

وقد تستخدم تقنية زراعة خلايا النبات وأنسجته أيضا فى توفير بعض المنتجات الزراعية ــ دون نبات . من الممكن أن تستزرع فى المستنبت مثلا أنسجة نبات الفانيليا ، وأنسجة أشجار الصمغ ، لننتج منها الفانيليا والصمغ فى المعمل دون مَزَارع ، ونوفر الأرض لزراعة محاصيل أخرى . (لكن مثل هذا الأمر قد يشكل بالفعل خطراً بالنسبة لمدغشقر التى تعتمد على تصدير

الفانيليا فى توفير جانب كبير من دخلها من النقد الأجنبى ، وبالنسبة للسودان المُصَدِّر للصمغ العربى) . ولقد تمكنت إحدى الشركات بالفعل عام ١٩٩١ من إنتاج الفانيليا من مزارع الأنسجة — والفانيليا التى تنتجها بالطبع ليست اصطناعية ، إنما هى مطابقة تماماً لما تنتجه بذور أوركيدة الفانيليا . وهناك الآن من العلماء من يحاول إنتاج ألياف القطن من مزارع الأنسجة . بل وهناك مَنْ قد تمكّن فعلاً من تنمية الحويصلات التى تحمل العصير فى ثمار البرتقال والليمون والجريب فروت — ليُنتج عصائر الموالح من مزارع الأنسجة — دون ثمار ، دون أشجار . كما نجح آخرون فى تنمية الجزء المأكول من ثمار الكريز . إن تقنية زراعة الأنسجة قد تخدم كثيرا فى توفير الأرض لزراعات أخرى ، وفى توفير منتجات زراعية لبعض النباتات ، حتى فى بلاد ومناطق لاتصلح زراعتها فيها أصلاً لاختلاف المناخ مثلا أو التربة.

البيوتكنولوجيا وتسميد النبات

النتروجين (الأزوت) واحد من أهم العناصر التى يحتاجها النبات لبناء أنسجته — فكل حامض أمينى فى بروتين يحتوى ، بجانب الكربون والأيدروجين والأكسجين ، على ذرة نتروجين على الأقل . يشكل النتروجين نحو أربعة أخماس الهواء الذى نتنفسه ، لكن النباتات لا تستطيع أن تستفيد منه إلا إذا كان فى صورة أزوت " مُثَبَّت " fixed ، إما متحداً مع الأكسجين فى صورة نترات أو مع الأيدروجين فى صورة أمونيا . يوفر المزارع لنباتاته الأزوت فى شكل أسمدة اصطناعية غالية الثمن . ولقد تضَاعف المستَهْلَكُ من مثل هذه الأسمدة بصورة هائلة مع تطوير السلالات غزيرة الإنتاج من محاصيل الحقل ، فمثل هذه السلالات تحتاج من الأزوت ما يزيد كثيرا عما توفره التربة طبيعيا .

ليس هناك من الكائنات الحية مايمكنه تثبيت النتروجين سوى بعض أنواع البكتريا والطحالب الخضراء المزرقّة blue green algae – لكن بعض

النباتات قد تمكنت من خدعة . ثمة عائلة من النباتات يمكنها أن توفر لنفسها الأزوت : عائلة البقوليات التى تضم الفول والفول السودانى والعدس والبسلة والفاصوليا واللوبيا والحمص والترمس والبرسيم . تؤوى جذور هذه النباتات أنواعا مختلفة من بكتريا الريزوبيوم *Rhizopium* المثبّتة للنتروجين ، التى تعيش فى صورة تكافل مع هذه النباتات : النبات يوفر المأوى والطاقة ، والبكتريا توفر له الأزوت . عندما تدخل البكتريا الشعيرات الجذرية ، وتتحرك نحو لحاء الجذر ، تَنْشط بها جينات nod genes تؤدى إلى ظهور نتوءات تسمى العقد الجذرية nodules سرعان ما تمتلىء بملايين البكتريا التى تقوم بتثبيت النتروجين ، وتعمل كمصنع لتوفير الأزوت للنبات العائل . ولما كانت البكتريا تختلف فى قدرتها على تثبيت النتروجين ، فقد تمكن المربون من استنباط سلالات منها أكثر كفاءة . لكن الحقيقة هى أن جذور أهم محاصيل الحقل من النجيليات (القمح والذرة والأرز) لا تؤوى مثل هذه البكتريا . ولقد اتضح أن أنواع نباتات البقول المختلفة تفرز موادا معينة تجذب بها إليها أنواع الريزوبيوم الخاصة بها . من الممكن إذن التفكير فى تطعيم المادة الوراثية للنباتات النجيلية بالجينات المشفِّرة لمواد الجذب هذه .

تثبّت البكتريا الأزوت عن طريق إنزيم النتروجينيز nitrogenase وجهاز وراثى يسمى " جهاز تثبيت النتروجين ـ نيف " Nif مؤلف من نحو إثنى عشر جينا . أمكن بالفعل نقل هذا الجهاز على بلازميدة إلى بكتريا إ. كولاى فأصبحت هذه البكتريا تثبّت النتروجين . ومن الطبيعى أن تجرى المحاولات لنقل هذا الجهاز إلى النباتات غير البقولية لتثبت هى ذاتها النتروجين ، أو أن يُنْقَل جهاز نيف هذا إلى بعض البكتريا الحرة فى التربة لتثرى التربة بالنتروجين المثبّت .

[من المثير هنا أن نذكر أن بعض العلماء قد اكتشفوا ، منذ عام ١٩٣٨ ، أن دخول الريزوبيوم إلى الشعيرات الجذرية لنبات الفول *Vicia faba* (وغيره من البقوليات كما اتضح فيما بعد) يدفع بعض الجينات

الصامتة فى جينوم النبات إلى العمل والتعبير عن نفسها ، فتنتج داخل العقد الجذرية صبغةً حمراء ثبت أنها هيموجلوبين دم . تتكون هذه الصبغة من أربع سلاسل من الأحماض الأمينية (أ ، ب ، جـ ، د) ــ السلسلتان أ ، جـ تشبهان سلاسل الجلوبين فى الحيوانات العليا ، أما السلسلة أ بالذات فتشبه كثيرا سلسلة جاما فى هيموجلوبين الأجنة البشرية] .

والواقع أن بالتربة ــ كما ذكرنا ــ بكتريا حرة يمكن أن تُستخدم كمصدر أزوت للنبات . من هذه النوع كلبسييلا *Klebsiella* . ولقد أمكن استنباط سلالة من هذه البكتريا تحمل طفرة من جين بها تجعلها تنطلق تنتج أيونات الأمونيا فى البيئة حولها دون توقف ، بغض النظر عما وصل إليه تركيز هذه الأيونات ــ فالجين الطافر يغلق آلية التغذية المرتدة .

وهناك مشاريع هدفها تحسين علاقة تكافلٍ ثلاثى معروفة من زمان طويل لدى مزارعى الأرز فى فيتنام والصين ، وذلك لتوفير الأزوت لنبات الأرز ، إذ ينمو فى حقول الأرز سرخس مائى water fern اسمه أزولاً Azolla يعيش فى أوراقه طحلب أخضر مزرقّ اسمه أنابينا أزولّى *Anabaena azollae* . ومع تحلل سرخس أزولاّ يصبح الأزوت الذى ثبته به الطحلب متاحاً لنبات الأرز . يعمل المهندسون الوراثيون على دفع هذا النظام التكافلى إلى إنتاج مستويات من الأزوت المثبت أعلى ليخدم فى تسمين الأرز وزيادة انتاجه .

التمثيل الضوئى
photosynthesis

ثمة محاولات تجرى الآن لرفع التمثيل الضوئى للنباتات بهدف رفع معدل النمو . يتألف الإنزيم الذى يثبت ثانى أكسيد الكربون [واسمه روبيسكو rubisco (ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase)] من ثمانية

بروتينات كبيرة تشفر لها جينات موجودة بالبلاستيدات الخضراء (الكلورو بلاستات) ، وثمانية صغيرة تشفر لها جينات بالنواة . وليس ثمة طريقة سهلة يمكن بها تحوير جينات الكلوروبلاستات ، وإن كان مسدس الجسيمات قد يعطى أملاً ، غير أن الأمر قد يتطلب بعض الوقت للوصول إلى نتائج إيجابية .

التلون البُنِّى (الاسمرار)
browning

من بين أهم الصفات التى تهم مُزارع الخضراوات والفاكهة بعد الجنى أو القطف : صفة التلون البنى التى تقلل من سعر منتجاته عند التسويق. وقد اتضح أن المسئول عن هذه الصفة هو إنزيم بوليفينول أكسديز polyphenol oxidse (PPO) الذى يوجد فى النباتات فى صورتين : صورة خاملة وأخرى نشطة . تتحول الصورة الخاملة ــ طبيعيا ــ إلى الصورة النشطة لتظهر صفة الاسمرار . ولقد عثر العلماء على جين بإحدى سلالات العنب يعطل عملية التحول هذه ، ومن ثم يطيل عمر الثمرة معروضة فى السوق . كُلْوِن الجين من العنب والتفاح والبطاطس ، ويتم نقله إلى جينومات الكثير من أنواع الخضراوات والفواكه .

تكنولوجيا التعطيل
antisense technology

من الممكن أن تستخدم تكنولوجيا التعطيل فى وقف عمل الجينات المشفِّرة للإنزيمات التى تحلل جدر خلايا النبات وتهضمها بحيث تصبح مهيأة للعطب السريع . تتلخص هذه التقنية فى إيلاج جين مُصَنَّع synthesized فى الدنا الكروموزومى للنبات ، يكون تتابعه هو التتابع على الجديلة البطالة للجين العامل المشفِّر لإنزيم التحليل ، (بعد إضافة المنشط promoter)

مقلوباً . من شأن هذا الجين المصنَّع أن ينتج رنا مرسال يكون هو النسخة المكملة للرنا المرسال للجين الأصلى ، ومن ثم يقترن المرسالان ، فلا يترجم المرسال الأصلى إلى بروتين الإنزيم المحلِّل .

دعنا نتخيل لمجرد التوضيح أن الجين الأصلى مكون من ست نوتيدات فقط :

الجديلة العمالة : ٥َ ـ س أ س ث ج ج ـ ٣َ

الجديلة البطالة : ٣َ ـ ج ث ج أ س س ـ ٥َ

نعرف مما سبق أن الرنا المرسال يتخذ الجديلة البطالة قالبا :

الجديلة البطالة : ٣َ ـ ج ث ج أ س س ـ ٥َ

الجديلة المفردة للرنا المرسال : ٥َ ـ س أ س ى ج ج ـ ٣َ

سنصنِّع الآن جينا له ترتيب الجديلة البطالة للجين الأصلى ، ستكون جديلتاه :

الجديلة العمالة : ٥َ ـ س س أ ج ث ج ـ ٣َ (وهى الجديلة البطالة للجين الأصلى)

الجديلة البطالة : ٣َ ـ ج ج ث س أ س ـ ٥َ

ستُتخذ الجديلة البطالة الأخيرة قالبا لصناعة الجديلة المفردة للرنا المرسال لهذا الجين المصنَّع :

الجديلة البطالة : ٣َ ـ ج ج ث س أ س ـ ٥َ

الرنا المرسال للجين المصنَّع : ٥َ ـ س س أ ج ى ج ـ ٣َ

جديلتا الرنا المرسال إذن تقترنان

الرنا المرسال للجين الأصلى : ٥َ ـ س أ س ى ج ج ـ ٣َ

الرنا المرسال للجين المصنَّع : ٣َ ـ ج ى ج أ س س ـ ٥َ

فيبطل عمل الرنا المرسال للجين الأصلى ولا يُتَرجَم إلى بروتين الإنزيم المحللِ لجدر الخلايا .

ولقد استخدمت هذه الطريقة لإنتاج سلالة من الطماطم تبقى على الرف أسابيع قبل التلف . والواقع أنه من الممكن أن تُحقَن جدائل الرنا المكملة ، أو جدائل مفردة من الدنا لها التتابع المكمل ، أو حتى بلازميدات تحمل الجين المعكوس لينتج الرنا المكمل ، وذلك لتعطيل ترجمة الرنا المرسال للجين . (وقد نجحت هذه الطريقة فى وقف عمل بعض جينات السرطنة oncogenes فى الإنسان) .

نباتات مطعمة بجينات بشرية

الضرب (١) من مرض السكر diabetes فى الانسان ينشأ عندما يهاجم الجهازُ المناعىُّ خطأً بعض بروتينات الجسم ، وبالذات بروتيناً يسمى جاد GAD ، على الخلايا المفرزة للإنسولين بالبنكرياس — الهرمون الضرورى لحفظ المستوى الصحيح من السكر فى الدم . إذا ما تحطمت هذه الخلايا ، أصبح على المريض أن يلجأ يومياً إلى حُقَن الإنسولين . ركزت دراسات كثيرة على تعاطى المريض بالفم لكميات وفيرة من بروتين جاد هذا حتى يُمنع الجهاز المناعى من تدمير خلايا البنكرياس ، وكانت المشكلة هى صعوبة تصنيع هذا البروتين بكميات تسويقية .

نجح بعض الباحثين الكنديين مؤخراً (يوليو ١٩٩٧) فى إيلاج الجين المشفر لبروتين جاد فى دنا نباتات البطاطس ، وأنتجوا بطاطس تحمل مستويات عالية من هذا البروتين . ثمة سلالة من فئران انتُخبت للحساسية العالية لمرض السكر ، وتعتبر نموذجاً ممتازاً لحاملى الضرب (١) من مرض السكر – فلها نفس تركيب البنكرياس ولها نفس الاستجابة المناعية . غذيت عينة من فئران هذه السلالة بالبطاطس المهندسَةِ وراثياً ، وكانت النتائج مشجعة جداً ، ويجرى الآن تجريبها على البشر . يعتقد الباحثون أن أكل النباتات المهندسة وراثيا هندسةً ملائمة قد تنجح حتى فى منع طرد الجسم للأعضاء المزروعة فيه .

ولقد أمكن بالفعل إنتاج الكثير من النباتات المطعمة بجينات بشرية تشفر لبروتينات بشرية : بطاطس تنتج ألبيومين الدم ، لِفْت ينتج الإنكفالين ، الذى يفرزه المخ لمنع الألم ، نبات تبغ ينتج إنترلوكين ــ ٢ ، وخضراوات وفواكه (كالموز والطماطم والبطاطس) تحمل فاكسينات بشرية للسعال الديكى والالتهاب الكبدى الوبائى ب ، وأمراض الإسهال والتيتانوس والدفتريا ، بل وتحمل أجساماً مضادة لبكتريا تسوس الأسنان .

(ب)

الزراعة الحيوانية

هرمون النمو البقرى (السوماتوتروبين البقرى)
bovine somatotropin (BST)

هرمون النمو البقرى (السوماتوتروبين) ــ مثل نظيره البشرى ــ تفرزه الغدة النخامية ، وهو يقوم بتوجيه النمو وإنتاج اللبن . والواقع أن لكل نوع من الثدييات هرمون النمو الخاص به ، والذى لايعمل فى غيره من الحيوانات " الأعلى " ـ نعنى أن هرمون النمو البقرى يعمل فى الفئران ولكنه لايعمل فى الإنسان . ولقد عُرِف فى انجلترا منذ أيام الحرب العالمية الثانية أن هذا الهرمون البقرى يرفع من كفاءة إنتاج اللبن من الماشية ، غير أن الكميات التى يمكن الحصول عليها من الغدد النخامية للحيوانات المذبوحة لم تكن تسمح بالتوسع فى استخدامه . ولقد قدمت بيوتكنولوجيا الدنا المُطَعَّم الحل ، فأصبح من الممكن الآن انتاجه من البكتريا بكميات تكفى حاجة السوق ،وذلك بعد أن طُعمت المادة الوراثية للبكتريا بالجين البقرى المسئول .

يرفع هذا الهرمون إنتاج اللبن من الأبقار فى القطعان التجارية إذا

حُقنت به يوميا (فإنزيمات الهضم تحلله إذا أُخِذ عن طريق الفم) بنسبة تبلغ ١٠ ـ ١٥٪ (وتصل هذه النسبة إلى ٤٠٪ فى قطعان التجارب) ، كما يرفع كفاءة التحويل الغذائى feed efficiency بنسبة ٥ ـ ١٠٪ ـــ بينما تظل نسب مكونات اللبن المختلفة (من دهون وكربوهيدرات وبروتين) دون تغيير ، ومثلها أيضا مستوى الهرمون ذاته فى اللبن (فهو يَمُر طبيعيا إلى اللبن) واستخدام هذا الهرمون البقرى الطبيعى (الذى تنتجه البكتريا) يَعِدُ الآن بزيادة حقيقية ملموسة فى إنتاج الألبان من القطعان التجارية ، ويُعامل به الآن ١٥ ـ ٢٠٪ من الأبقار بالولايات المتحدة .

بكتريـــا الكَرِش

والواقع أن هنـاك أبحاثا مكثفة تجرى لرفع كفاءة التحويل الغذائى للأبقار عن طريق تحسين وتحوير التركيب الوراثى للكائنات الحية الدقيقة الموجودة بالكرش ، فهذه الكائنات هى التى تمكّن الحيوان من الاستفادة من اللجنين بمواد العلف الخشنة التى يتعاطاها ، ومن استخدام كميات كبيرة من النتروجين غير البروتينى . من الممكن بتكنولوجيا الدنا المطعم أن يُحَسَّن أداء هذه الكائنات الدقيقة فى تحليل السليولوز واللجنين ، وفى إنتاج مواد نافعة غذائيا للحيوان ، مثل الفيتامينات والأحماض الأمينية ، وفى توجيه الناتج بالكرش من غازات ثانى أكسيد الكربون والميثان إلى خلات acetate ، بدلاً من خروجها كعادم .

الحيوانات عبر الجينية
transgenic animals

أُعلن عن نجاح أولى تجارب إنتاج حيوانات عبر جينية فى ديسمبر ١٩٨٢ ـ فى تجربة غدت الآن كلاسيكية . والحيوان عبر الجينى هو حيوان

أولجت فى مادته الوراثية جينات من كائن آخر . قام بهذه التجربة علماء من جامعتى واشنطون وبنسلفانيا ، وفيها أولج جين بشرى يشفر لهرمون النمو ، فى فأر . أُضيف إلى الجين البشرى قبل إيلاجه تتابع دناوى " منشط " promoter من جين يعمل فى الكبد ويخدم فى ربط أيونات المعادن . يتسبب هذا المنشط فى دفع جين هرمون النمو البشرى إلى العمل عند وجود معدن الزنك فى الغذاء . عندما قُدم للفأر عبر الجينى الزنكُ فى ماء الشرب نشط الجين بالفعل ، فأُفْرِزت فى جسمه كميات ضخمة من هرمون النمو (البشرى) حفزت نموه بدرجة كبيرة ، حتى ليبلغ وزنه عند تمام نموه ضعف وزن الفأر الطبيعى . ولقد احتفظت سلالة الحيوانات عبر الجينية بنفس هذه الصفة ، مما يؤكد أن الجين البشرى قد توطّد واندمج بالفعل فى جينوم الفأر . قام العلماء أيضا بإنتاج فئران عبر جينية أولج فيها فى الفئران الجين المشفِّر لإنتاج هرمون النمو فى الجرذ ، وأعطت نتائج شابهة .

[ربما كان من المهم هنا أن نذكر أن لاختيار التتابع الدناوى المنشط للجين المنقول أهميته الخاصة ، فمن الممكن أن يُختار بحيث يقوم بتنشيط هذا الجين فى وجود عنصر لا يتوفر عادة فى غذاء الحيوان عبر الجينى (كالزنك مثلا) حتى يمكن فتح الجين ليعمل ، أو غلقه وابقاؤه صامتا ، بمجرد تغيير العليقة] .

تتم عملية نقل الجينات إلى الحيوانات فى الزيجوت ـ فى الخلية التى تنشأ عن إخصاب الحيوان المنوى للبويضة ـ وذلك بالحقن المباشر للجين ، على أمل أن يندمج فى جينوم الجنين ، لينقل الجنين بعد ذلك إلى رحم أمٍّ تحمله . وقد يتم نقل الجينات ـ كما سبق أن ذكرنا ـ عن طريق فيروس ارتجاعى يولج فيه الجين المطلوب نقله ، بعد تجريده (الفيروس) من القدرة على التضاعف والايذاء . من الممكن عمليا إنتاج حيوانات عبر جينية أفضل

كفاءة فى النمو وفى تمثيل البروتين وفى مقاومة الأمراض – مثلا دواجن مقاومة لمرض إنفلونزا الطيور avian influenza ، وحيوانات أكثر قدرة على انتاجِ أغزر من السوماتوتروبين الخاص بها – بل لقد أمكن " إنتاج " عنز وأغنام وأبقار تحمل جينات بشرية تشفر لإنتاج عقاقير ثمينة فى ألبانها . وهنا تحقن فى أنوية بويضات هذه الحيوانات الثديية ، الجينات المشفرة للعقاقير بعد ربطها بمنشط بيتالاكتوجلوبيولين beta-lactoglobulin promoter الذى لايعمل إلا فى أنسجة الغدد اللبنية . (ويمكن التأكد من استيعاب البويضة للجين المولَج ، وذلك باستخدام التفاعل المتسلسل للبوليميريز على دنا الوليد ، يُستخدم فيه مطلعان primers من تتابع هذا الجين المولَج) . يمكن إذن عزل العقاقير من اللبن بعد الحلب ، وتنقيتها للاستعمال البشرى . وهناك الآن أغنام وأبقار وعنز تعمل هكذا كمفاعلات حَيَّة bioreactors تحمل جينات بشرية مثل الجين المشفر لمنشط بلازمينوجين الأنسجة (الذى يذيب جلطات الدم بعد النوبات القلبية) ، والجين المشفِّر للإريثروبويياتين erythropoeitin (الهرمون الذى ينظم إنتاج كرات الدم الحمراء) ، والجين المشفر لعامل التجلط رقم ٩ (الذى يعالج به مرضى النزف الدموى hemophiliacs) ، والمشفر لإنترلوكين -٢ . ولقد نجح إنتاج خنازير عبر جينية تنتج هيموجلوبين دم الإنسان ، بحيث يمكن استخلاصه من كرات الدم الحمراء للخنزير وحقنه فى من يحتاجه من البشر . يمكن أن يؤخذ من الخنزير كبير الحجم نحو اثنى عشر لتراً فى السنة دون آثار صحية سيئة عليه ، ومنها يمكن استخلاص ٠,٥ – ١,٠ كيلوجرام من الهيموجلوبين البشرى النقى . (والحقيقة أن الخنازير أسهل فى استيعاب الجينات البشرية من الأغنام والأبقار ، كما أن عدد خلفتها litter size أكبر وفترة حملها أقصر) .

يحدد محصول الصوف الذى تنتجه الأغنام بمقدار ما يتاح لها من الحمض الأمينى السستيين cysteine ، فالأغنام لايمكنها تمثيل هذا الحمض ، ولابد أن يقدم فى غذائها . ثمة أنواع من البكتريا يمكنها أن تصنع هذا

الحمض من آخر موجود بالجسم . ولقد كُلْونت من هذه البكتريا الجينات المسئولة عن تصنيع السستيين لتولج فى الجهاز الوراثى لبعض أغنام الصوف.

ولقد تستخدم بعض الثدييات عبر الجينية ، وبالذات الفأر (وهذا واحد من الكائنات الخمسة النموذج التى يقوم مشروع الجينوم البشرى بسَلْسَلَة جينوماتها) كنماذج تولج فيها جينات الإنسان المرضية التى أمكن عزلها وكلونتها ، لدراسة الأثر الفسيولوجى والمَرَضىّ لهذه الأمراض وطرق التغلب عليها بتمييز الوسائل العلاجية الملائمة .

نقل أعضاء الحيوان إلى الإنسان

هناك الآن تحرك علمى واسع لدراسة إمكانية نقل أعضاء الحيوان إلى البشر ، وذلك لمواجهة نقص " المعروض " من الأعضاء البشرية عن المطلوب ـ حتى ليموت أكثر من نصف المرضى المحتاجين لعمليات نقل الأعضاء قبل التمكن من إجراء العملية بسبب عدم توفر العضو البشرى اللازم .

كانت أول عملية ناجحة لزرع الأعضاء فى البشر هى تلك التى قام بها جوزيف موراى Joseph E . Murray وزملاؤه فى بوسطون عام ١٩٥٤ ، وقاموا فيها بنقل كُلْيَةٍ إلى مريض مأخوذةً من توأمه الطبيق identical twin ـ فهنا لا يستطيع الجهاز المناعى للمريض أن يميز فى الكلية المزروعة ما هو غريب عنه . ثم بدأت بعد ذلك عمليات نقل أعضاء بشرية أخرى ـ كالقلب والرئة والكبد والبنكرياس ـ مأخوذة من واهبين donors من غير أقارب المرضى ، وذلك بعد معاملة المرضى بعقاقير تكبت الاستجابة المناعية لأجسامهم فلا ترفض العضو المزروع .

ثم تحول العلماء إلى دراسة نقل الأعضاء بين الحيوانات من أنواع مختلفة xenotransplantation سعياً وراء الخروج من مأزق صعوبة توفير العضو البشرى المطلوب فى الوقت الملائم ، فاتضح أن أجسام الحيوانات ترفض على الفور أى عضو مزروع من نوعٍ آخر ، وظهر أن السبب فى هذا الرفض هو أن جسم المتلقى recipient يحمل أجساماً مضادة تلتحم بالأنسجة الغريبة ، مما يؤدى إلى تنشيط بروتينات خاصة مكملة complement proteins فى الدم تحطم ما بالعضو المزروع من أوعية دموية ، فتسبب نزيفاً خطيراً يقتل .

تمكن فريق يرأسه دافيد هوايت D . J . G White عام ١٩٩٢ بالهندسة الوراثية من إنتاج خنازير تحمل جيناً بشرياً يشفِّر لإنتاج بروتين يثبط البروتينات المكملة هذه . لم يجرب الفريق بعد نقل أعضاء من هذه الحيوانات إلى البشر ، لكن أعضاء مثل هذه الخنازير المهندسة وراثياً قد عملت جيداً لفترة تزيد على الشهرين بعد نقلها إلى القرود .

تمكن دافيد كوبر D . K . C . Cooper مع غيره من الباحثين عام ١٩٩١ من تحديد الأنتيجينات على أسطح الخلايا المبطنة للأوعية الدموية للخنزير ، والتى تستهدفها الأجسام المضادة البشرية ، واتضح أنها مؤلفة من مجموعة سكر معينة ، ومن ثم فقد نتمكن من أن نربى خطا line من خنازير مهندسة وراثياً لا تحمل هذه المجموعة المعينة من السكر ، مثلاً بإزالة الإنزيم الذى يضيف هذا السكر ، أو بتطعيم المادة الوراثية للخنازير بجين يستبدل بهذا السكر سكراً آخر .

يبدو أن الخنازير تقدم أفضل الحلول لنقل الأعضاء إلى البشر ، فبجانب غزارة تكاثرها ، فإن أعضاءها تقارب الأعضاء البشرية فى الحجم والفسيولوجيا . فقط يلزم التأكد من أنها خالية من أية كائنات مُمْرِضة قد تصيب الإنسان ــ وهناك الآن بالفعل سلالات من الخنازير خالية من

مُمْرضات معروفة معينة . وربما أمكن فى الشهور القادمة ــ أو السنين القليلة القادمة ــ التحول إلى الخنازير المُهَنْدَسَةِ وراثياً لنقل الأعضاء إلى البشر (ثمة تجارب تجرى الآن أيضاً على الأغنام) لنحل بذلك مشكلة هائلة نشأت أصلاً بسبب نجاح تكنولوجيا نقل الأعضاء بين البشر .

كشف جينات الأمراض الوراثية في الحيوان

تخدم البيوتكنولوجيا فى مساعدة مربى الحيوان فى التخلص من بعض الأمراض الوراثية فى حيواناته . هناك فى استراليا مرض وراثى بالماشية إسمه مرض بومب Pompe disease يسبب ضموراً خطيراً فى العضلات يودى بحياة العجول بعد الفطام بنحو ستة أشهر (ويوجد له مثيل فى الانسان يقتل الوليد فى سنته الأولى ، وإن كان مرضا وراثيا نادرا : وليد بين كل ١٥٠٠٠٠) . وراء هذا المرض جين متنح يتسبب فى الأفراد الأصيلة له فى عجز الجسم عن إنتاج إنزيم ألفا جلوكوسيديز alpha glucosidase الذى يحرر الجلوكوز من الجليكوين ليستخدمه الجسم فى إنتاج الطاقة . الحيوان ذو التركيب الوراثى الأصيل لهذا الجين المتنحى يموت إذن مبكراً ، لكن الأفراد الخليطة heterozygotes (التى تحمل الجين المعيب مع الجين الطبيعى) تحيا ، وتبلغ نسبتها فى عشيرة الماشية نحو ١٥٪ (أى أن تكرار الجين المعيب فى العشيرة يبلغ نحو ٨,٢ ٪) . من المهم لمربى الماشية breeder ألا يحدث تزاوج بين فردين خليطين (يحمل كل منهما الجين المعيب) لأن ربع النسل الناتج سيقتله المرض ، لكن من المهم جدا ألاّ يستخدم ذكر خليط فى التلقيح الاصطناعى حتى لا يُنشر الجين ويزيد فى العشيرة تكراره .

عثر الباحثون على إنزيم تحديد (MspI) له داخل الجين الطبيعى موقع تعرف ــ أما الجين المعيب فيحمل طفرة نقطية واحدة (تحيل حمض البرولين فى البروتين الذى يشفّر له الجين الطبيعى ، إلى حمض جلوتامين)

فى موقع التعرف هذا ، فلايميزه الإنزيم (تماما مثل الطفرة النقطية بالجين المشفر لجلوبين الدم فى الإنسان الذى سبق عرضه) . لذا تختلف نتائج التشظية بالإنزيم بين الأفراد الأصيلة للجين الطبيعى وبين حاملى جين المرض . أمكن إنتاج المسبر المشع لكشف الجين المرضى ، وغدا من الممكن فى ظرف ساعات ــ عن طريق دنا مأخوذ من خلايا الدم ــ كشف وجود الجين من عدمه .

كذا تخدم البيوتكنولوجيا فى تشخيص الأمراض الوراثية بالحيوان ــ وهى تخدم أيضا فى زيادة دقة وكفاءة تشخيص الأمراض البكتيرية والفيروسية التى تصيب الحيوان ، وفى الوقاية منها والسيطرة عليها ، مثلما تخدم فى تطوير علاجات وفاكسينات للتحصين أكثر فعالية ضد مثل هذه الأمراض ، باستخدام الدنا المطعم والأجسام المضادة النقية ــ ولقد قدمت أيضا تشخيصيات يمكن بها كشف الشياع والحمل فى الأبقار ، وكشف سموم الأفلاتوكسين فى العلائق .

التلقيح الاصطناعى ومنابلة الأجنة

ربما كان أوسع استعمال معروف للبيوتكنولوجيا فى الإنتاج الحيوانى هو التلقيح الاصطناعى artificial insemination باستعمال السائل المنوى المجمد frozen semen ، فبه قد يصل عدد نسل الذكور الممتازة المنتخبة إلى الآلاف . فانتخاب الذكور التى تحمل تراكيب وراثية ممتازة لإنتاج اللبن أمر صعب يتطلب مجهودا وزمنا ومالاً كثيرا ، يُختَبر فيه الذكر بإنتاج نسله الإناث من اللبن ، مع الاستعانة بما قد يتوفر من سجلاتٍ لإنتاج أسلافه الإناث وقريباته . يُجمع السائل المنوى من الذكور الواعدة وهى صغيرة مرتين أو ثلاث أسبوعيا ، ليخفَّف ثم يُجَمَّد بعد تقسيمه إلى جرعات صغيرة

يحمل كل منها من الحيوانات المنوية مايكفى للإخصاب . يتم التجميد فى النتروجين السائل (ـ ١٩٦ درجة مئوية) الذى يمكن أن يحفظ الحيوانات المنوية لعشرات السنين . ولقد يُجْمع من الذكر الواحد عشرات الآلاف من الجرعات قبل التخلص منه ، لتُحقّق حتى يتم اختباره بنسله وتُقَدَّر قيمته التربوية breeding value لتباع الجرعات بأسعار متباينة ، ويعدم منها ما نتج عن طلائق ثبت أن قيمتها التربوية أدنى من المطلوب .

أصبح السائل المنوى المجمد من طلائق حيوانات اللبن (واللحم) الممتازة سلعة عالمية ، يسهل تصديرها ، ذات سوق واسع ، ورفعت من قدر التحسين الوراثى بالانتخاب فى ماشية اللبن فى الكثير من السلالات بشكل مذهل .

لايمكن بالطبع أن ننتج الآلاف من نسل أنثى ممتازة ، غير أنَّا قد نتمكن من إنتاج عشرة أو بضع عشرات ، إذ من الممكن أن تعالج أنثى عُرِفت بتميزها (بقرة كانت أو جاموسة أو نعجة أو عنزة) ، تعالج بهرمونات خاصة لتزيد عدد ما تطلقه من بويضاتٍ تُجْمَعُ وتُخْصَب اصطناعيا ، وتحفظ فى صورة أجنة مجمدة إلى أن توضع فى أرحام أمهات بديلة . بهذه الطريقة يمكن أن ننتج من البقرة الممتازة الواحدة ٢٠ ـ ٣٠ جنينا كل عام . (ولقد يمكن فى المراحل الأولى من انقسام الجنين أن تؤخذ منه بعض الخلايا لاختبار جنسه ، ذكر أم أنثى ، قبل تجميده) . بهذه الطريقة يمكن أن ننقل أجنة أبقار فريزيان ممتازة ، من أمريكا مثلا أو أوروبا ، لتحمل بها أبقار بلدية فى مصر وتلد عجلات فريزيان أصيلة دون الحاجة إلى نقل الأبقار نفسها من الخارج . والواقع أنه من الممكن فى المراحل الأولى من انقسام خلايا الجنين أن يُفَصَّص ويُعَاد تفصيصه لننتج من الجنين الواحد عدداً من الأجنة المتطابقة identical وراثيا ـ ثلاثة أو أربعة أو عشرات . ولما كنا نستطيع أن نلقح بويضات الأم الممتازة بحيوانات منوية من طلائق ثبت امتيازها الوراثى ، ففى مقدور المربى إذن أن ينتج أعداداً كبيرة من التراكيب

الوراثية الممتازة ، ربما لينتقى منها من الذكور ما يختبره بالنسل .

[ربما أشارت هذه المناقشة إلى بعض ما يمكن للبيوتكنولوجيا أن تفعله بشأن الحفاظ على التنوع الحيوى biological diversity ومنع انقراض الأنواع البرية والسلالات ـ إذ يمكن أن تجمد البويضات والحيوانات المنوية والأجنة لأى نوع أو سلالة يخشى من انقراضها] .

تجنيس sexing الحيوانات المنوية

تجرى الآن محاولات أوشكت أن تنجح لتجنيس الحيوانات المنوية ، أى فرز ما يحمل منها الكروموزوم ص Y ، مما يحمل الكروموزوم س X وذلك للتحكم عند التلقيح فى جنس المولود (فالحيوان المنوى هو الذى يحدد الجنس) . فمربى ماشية اللبن لايهمه كثيرا أن تلد أبقاره ذكوراً ، فهو يريد الإناث . أما مربى ماشية اللحم فيهمه أن تلد أبقاره ذكورا . وتجنيس الحيوانات المنوية إذاً سيخدِم برامج التحسين الوراثى فى ماشية اللبن (أو اللحم) خدمة هائلة حقاً ، إذ سيُضاعِف أعداد الحيوانات للاختبار وللانتاج .

تعتمد معظم تجارب تجنيس الحيوانات المنوية على ما هو معروف من أن الكروموزوم س X فى حيوانات المزرعة أكبر بعض الشىء من الكروموزوم ص Y ، وبذا تكون كتلة الدنا فى نواة الحيوان المنوى الحامل س أكبر بعض الشىء (بنسبة ٣ ــ ٤٪) من كتلة الدنا فى نواة الحيوان المنوى الحامل ص . يُكْشَف هذا الفرق باستخدام صبغة لاصفة fluorescent تصبغ أنوية الحيوانات المنوية بحيث يمكن فصل نوعيها باستخدام تقنيات فرز الخلايا على أساس الفارق الصغير فى كثافة اللصف . عندما أجرى هذا على الحيوانات المنوية للأرانب كانت نسبة الإناث فى النسل الناتج عن الأمهات الملقحة بالحيوانات المنوية " الثقيلة " هى ٩٤٪ ، أما الملقحة بالحيوانات

المنوية " الخفيفة " فكانت نسبة الذكور فى نسلها ٨١٪ . لكن التطبيق الواسع لهذه الطريقة على حيوانات المزرعة لايزال يحتاج إلى بحوث أخرى .

الحساسية لشرب اللبن

يسبب شرب اللبن متاعب كثيرة لنسبة كبيرة من الناس قد تصل فى بعض المجتمعات إلى ١٠٪ ، والسبب أنهم لا يستطيعون (وراثيا) هضم سكر اللبن ، اللاكتوز lactose ، بسهولة ، فأمعاؤهم لا تفرز إلا كميات ضئيلة من إنزيم اللاكتيز lactase الذى يحلل اللاكتوز إلى سكر دكستروز (سكر العنب) dextrose وسكر جالاكتوز galactose . يبقى سكر اللاكتوز إذن فى الأمعاء فيتخمر ، لتمتلىء البطن بالغازات مسببة الضيق والنفاخ والقىء والإسهال . والواقع أن أمعاء هؤلاء الحساسين intolerants لشرب اللبن تفرز فى سن الرضاعة مايكفى من اللاكتوز ، ولكن هذه القدرة تختفى بعد الطفولة .

هناك فُطر اسمه أسبرجِلّص أوريزى *Aspergillus oryzae* يمكنه إنتاج إنزيم اللاكتيز هذا بكميات وفيرة . وقد أمكن استخلاص هذا الإنزيم وربطه بالراتينج resin ليعمل " كمرشّح " يمرر فيه اللبن ، فيتحلل اللاكتوز إلى مكونيه ، ليجفف بعد ذلك لبنا خاليا من اللاكتوز . أقيمت مصانع لهذا الغرض فى استراليا لتسويق ألبانها فى آسيا حيث ترتفع نسبة الحساسين للاّكتوز .

الأشكال

***

* الشكل ١٢ مأخوذ من كتاب

Alberts et al (1994) Molecular biology of the cell.

* الأشكال ١ ، ٢ ، ٤ ، ٥ ، ٦ ، ٧ ، ١١ ، ١٥ مأخوذة من كتاب

Berg & Singer (1992) : Dealing with genes .

* الشكلان ١٣ ، ١٦ مأخوذان من كتاب

Morris (1995) : Biotechnology .

* الشكل ١٤ مأخوذ من كتاب

Sinnot, Dunn & Dobzhansky (1958) : Principles of genetics .

* الأشكال ٨ ، ٩ ، ١٠ مأخوذة من كتاب

Watson et al (1992) : Recombinant DNA .

* الشكل ٣ مأخوذ من كتاب يوكسين E.Yoxen : صناعة الحياة ، ترجمة أحمد مستجير (١٩٨٥) .

المـــراجـــــع

مراجــع باللغة الانجليزية

***

B. Alberts , D. Bray , J. Lewis , M. Raff , K . Roberts & J.D.Watson (1994) .
Molecular biology of the cell ,
Garland Pub., Inc., N.Y.

W.T. Anderson (1996)
Evolution is 'nt what it used to be ,
W.H. Freeman & Co., N.Y.

P. Berg & M. Singer (1992)
Dealing with genes,
University Science Books .

B. R. Baumgardt & M. A. Martin (Editors) (1991)
Agricultural biotechnology ,
Purdue Res. Foundation .

R.L. Lanza , D.K.C. Cooper & W.L. Chick (1997)
Xenotransplatation ,
Sci. Am. *276* : 40 - 45 .

B. Lewin (1994)
Genes ,
Oxford Univ. Press & Cell Press .

J. Lyon & P. Gorner (1996)
Altered fates ,
Norton , N. Y.

B. Morris (1995)
Biotechnology ,
Cambridge Univ. Press .

G. J. V. Nossal & R. L. Coppel (1989)
Reshaping life,
Cambridge Univ. Press.

E. W. Sinnott , L. C. Dunn & T. Dobzhansky (1958)
Principles of Genetics,
Mc Graw-Hill & Co., N. Y.

Staff report (1996)
Thaumatin ,
Food Technol . *51* : 74 - 75

J. D. Watson (1970)
The double helix
Penguin Books.

J. D. Watson , M. Gilman, J. Witkowski & M. Zoller (1992)
Recombinant DNA,
W. H. Freeman & Co., N. Y.

P. Wheale & R.Mc Nally (Editors) (1995)
Animal genetic engineering,
Pluto Press, England .

مراجع باللغة العربية

***

أحمد مستجير (مترجم) :

* *اللولب المزدوج* ـ مكتبة الأنجلو المصرية ـ ١٩٧٣ (تأليف جيمس واطسون)
* *صناعة الحياة* ـ مكتبة غريب ـ ١٩٨٥ (تأليف أ. يوكسين).
* *طبيعة الحياة* ـ سلسلة عالم المعرفة ، الكويت ـ ١٩٨٨ (تأليف ف. كريك) .
* *البذور الكونية* ـ الهيئة العامة للكتاب ـ ١٩٨٩ (تأليف ف. هويل ، س. ويكراماسينج) .
* *الهندسة الوراثية وأمراض الانسان* ـ دار النشر لجامعة القاهرة ـ ١٩٩٤ (تأليف ف. فروسارد) .

ماجد زكى وفوزى الفقى (١٩٩٦)

تقنيات زراعة الأنسجة النباتية ـ المكتبة التجارية الحديثة ـ القاهرة .

رقم الإيداع : ٣٠٧٧ / ٩٨

مطابع المكتب المصري الحديث
MODERN EGYPTIAN PRESS
ت : ٢٢١١٠٧١ - ٢٢١١٠٧٢ - فاكس ٢٢١١٠٧٣